UNIVERSITÉ DE TOULOUSE
FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

ANNÉE 1951 No 58

# CONTRIBUTION A L'ETUDE DU DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DES BRUCELLOSES HUMAINES

## THÈSE

pour le Doctorat en Médecine

(Diplôme d'Etat)

*Présentée et soutenue publiquement en Juillet 1951*

PAR

LICIA BRUS-TREVISAN

*Née le 24 Septembre 1921, à Trieste*

MEMBRES DU JURY

MM. G. ANDRIEU, *Président.*
R. SOREL
J. LAPORTE
Mme E. ENJALBERT
M. J. POULHES, *Suppléant*

*Assesseurs*

IMPRIMERIE PARISIENNE
16, Place du Palais
TOULOUSE

1951

# CONTRIBUTION A L'ETUDE
# DU DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE
# DES BRUCELLOSES HUMAINES

UNIVERSITÉ DE TOULOUSE
FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

ANNÉE 1951 No 58

# CONTRIBUTION A L'ETUDE DU DIAGNOSTIC BIOLOGIQUE DES BRUCELLOSES HUMAINES

## THÈSE

pour le Doctorat en Médecine

(Diplôme d'Etat)

*Présentée et soutenue publiquement en Juillet 1951*

PAR

LICIA BRUS-TREVISAN

*Née le 24 Septembre 1921, à Trieste*

MEMBRES DU JURY

MM. G. ANDRIEU, *Président.*
R. SOREL
J. LAPORTE
Mme E. ENJALBERT
M. J. POULHES, *Suppléant*

*Assesseurs*

IMPRIMERIE PARISIENNE
16, Place du Palais
TOULOUSE
—
1951

**UNIVERSITÉ DE TOULOUSE**

# FACULTE MIXTE de MEDECINE et de PHARMACIE

## TABLEAU DU PERSONNEL

| | | |
|---|---|---|
| Doyen | MM. | LEFEBVRE. |
| Assesseur | | BRUSTIER. |
| Doyens honoraires | | GORSE, CALVET. |

### PROFESSEURS HONORAIRES

| | | | |
|---|---|---|---|
| MM. RISPAL. | RIBAUT. | LAFFORGUE. | GARIPUY. |
| MÉRIEL. | CLERMONT. | SERR. | VALLOIS. |

### PROFESSEURS

| | | |
|---|---|---|
| Clinique de neurologie et de psychiatrie | MM. | RISER. |
| Clinique médicale | | TAPIE, ROQUES |
| Clinique obstétricale | | GUILHEM. |
| Physiologie | | SOULA. |
| Clinique chirurgicale du cancer | | DUCUING. |
| Physique biologique et médicale | | BUGNARD. |
| Clinique des maladies cutanées et syphilitiques | | NANTA. |
| Chimie et Toxicologie | | BRUSTIER. |
| Pathologie générale et médecine expérimentale | | SENDRAIL. |
| Clinique chirurgicale et gynécologique | | LEFEBVRE. |
| Anatomie | | LAZORTHES. |
| Histoire naturelle | | DELAS. |
| Clinique médicale infantile et puériculture | | SOREL (R.) |
| Pharmacie | | CAUJOLLE. |
| Pathologie interne et clinique des maladies de la tuberculose | | MOREL. |
| Bactériologie, hygiène, médecine sociale | | ANDRIEU. |
| Clinique chirurgicale infantile et orthopédie | | VIRENQUE. |
| Clinique des maladies des voies urinaires | | FABRE (P.) |
| Matière médicale | | VINCENT. |
| Hydrologie thérapeutique et climatologie | | MÉRIEL. |
| Anatomie pathologique | | FABRÉ (J.) |
| Clinique oto-rhino-laryngologique et chirurgie maxillo faciale | | CALVET. |
| Clinique ophtalmologique | | CALMETTES |
| Chimie Biologique | | VALDIGUIÉ. |
| Médecine légale et du travail | | PLANQUES. |
| Histologie et embryologie | | BROUSSY. |
| Médecine Sociale | | BOUNHOURE |
| Thérapeutique | | GADRAT. |
| Pathologie chirurgicale | | GRIMOUD. |
| Odonto-Stomatologie | | CADENAT. |
| Professeur à titre personnel | | BAISSET |

### PROFESSEUR SANS CHAIRE

| | | |
|---|---|---|
| Anatomie | MM. | COULOUMA. |

### MAITRES DE CONFÉRENCES AGRÉGÉS

| | | |
|---|---|---|
| Anatomie | MM. | POULHÈS. |
| Histologie | | BIMES. |
| Sciences Naturelles | | BOUISSET. |
| Bactériologie | Mme | ENJALBERT. |
| Chimie biologique | MM. | POLONOVSKI. |
| Physique Médicale | | AUVERGNAT. |
| Botanique | Mme | DULUCQ-MATHO |
| Pharmacie | | COUTURIER. |
| Chimie générale pharmaceutique | | BLANC. |

### AGRÉGÉS

| | | | |
|---|---|---|---|
| Médecine | MM. DARNAUD, GÉRAUD, DARDENNE, LAPORTE. BAUDOT | Chirurgie | RIEUNAU. DIEULAFÉ. DAMBRIN (P.). |
| Ophtalmologie | | | DEODATI. |
| Physique Médicale | | | MARQUÈS. |
| Obstétrique | | | PONTONNIER. |
| O R L | | | CLAUX. |
| Urologie | | | LHEZ. |

### COURS COMPLÉMENTAIRES

| | | |
|---|---|---|
| Cours d'obstétrique aux élèves sages-femmes | MM. | GUILHEM. |
| Chimie biologique | | DOUSTE-BLAZY. |
| Chimie Pathologique | | VALDIGUIÉ (P.). |
| Chimie minérale | | BLANC. |
| Physique pharmaceutique | | AUVERGNAT. |
| Dermatologie et syphiligraphie | | BAZEX. |
| Législation pharmaceutique | | BOUISSET. |
| Tuberculose | | MOREL. |
| Chimie pulmonaire | | DAMBRIN (P.). |
| Parasitologie | | BAUDOT. |
| Cryptogamie | Mme | DULUCQ-MATHOU. |
| Chimie analytique | MM. | BLANC. |
| Hydrologie et Géologie | | ASTRE. |
| Anatomie médico-chirurgicale | | THOMAS. |
| Pharmacodynamie (Méd.) | | BAISSET |
| Pharmacodynamie (Pharm.) | | CAUJOLLE. |
| Hygiène | | LAPORTE. |
| Urologie | | LHEZ. |
| Ophtalmologie | | DÉODATI. |
| Neuro-Chirurgie | | LAZORTHES. |
| Physiologie | | COLOMBIÈS. |
| Psychiatrie | | GAYRAL. |
| Mycologie | | MORQUER. |
| Histologie | | PLANEL. |
| Secrétaire de la Faculté | | ARGILAS |

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

**La Faculté déclare n'être pas responsable des opinions émises par les candidats**

*(Délibération en date du 12 mai 1891.)*

A MON MARI

A MES ENFANTS

A MES PARENTS

A MON FRERE ET A MES SŒURS

A TOUS LES MIENS

A NOTRE PRESIDENT DE THESE :

MONSIEUR LE PROFESSEUR G. ANDRIEU

*Professeur de Bactériologie, Hygiène*
*et Médecine Sociale*
*Chevalier de la Légion d'Honneur*

Qui a bien voulu nous inspirer le sujet de notre thèse.

Avec nos remerciements respectueux.

## A NOTRE JURY DE THESE :

### Monsieur le Professeur R. SOREL

*Professeur de Clinique Médicale Infantile*
*et Puériculture*
*Chevalier de la Légion d'Honneur*

Pour la bienveillance qu'il nous a toujours témoignée.

### Monsieur le Professeur agrégé J. LAPORTE

Pour la sollicitude qu'il nous a manifestée au cours de nos stages d'externat et d'internat.

### Madame le Professeur agrégé E. ENJALBERT

Qui nous a conseillée dans l'élaboration de ce travail.

### Monsieur le Professeur agrégé J. POULHES

Avec nos remerciements.

A MES MAITRES
DE LA FACULTE ET DES HOPITAUX

A MES CHEFS DE CONFERENCE
D'EXTERNAT ET D'INTERNAT

A MES CAMARADES
D'EXTERNAT ET D'INTERNAT

A TOUS MES AMIS

# INTRODUCTION

*S'il est une question qui a suscité de nombreux travaux, c'est bien celle du diagnostic biologique des Brucelloses. Pourtant de nombreux points restent encore obscurs, moins d'ailleurs dans le domaine de la technique que dans celui de l'appréciation des résultats fournis par les différentes méthodes.*

*Il est banal de dire que les Brucelloses sont d'un diagnostic difficile. Si souvent le tableau clinique est évident, il est de plus en plus de formes viscérales dans lesquelles le laboratoire seul peut affirmer l'étiologie mélitococcique. Et surtout, on a peut être un peu trop tendance, dans les régions d'endémicité, à considérer comme une fièvre ondulante une affection tout autre, sur la foi d'une légère agglutination du sérum ou d'une réponse positive de l'intra-dermo-réaction. Enfin, un autre problème se pose : celui du devenir d'une Brucellose, de la traduction biologique de son évolution vers la guérison ou la chronicité.*

*Nous nous proposons d'étudier successivement les moyens paracliniques nous permettant le diagnostic d'une Mélitococcie, en décrivant pour chacun d'eux*

*les différentes techniques existantes et en essayant de critiquer la valeur de chaque réaction.*

*Trois recherches se pratiquent quand on soupçonne une Brucellose :*

— *celle du germe dans l'organisme,*
— *celle des réactions d'immunité,*
— *et enfin, celle des réactions d'allergie.*

*Après avoir envisagé ces trois grands chapitres, nous essayerons, en terminant, de retracer l'évolution de la brucellose et de voir l'intérêt de chaque réaction en fonction du déroulement de la maladie.*

## *CHAPITRE PREMIER*

# LA MISE EN EVIDENCE DU GERME DANS L'ORGANISME

1° Nous envisagerons d'abord le ou plutôt les germes en cause, leurs propriétés physiques et biochimiques, les milieux de culture utilisés et le résultat de l'inoculation à l'animal.

2° Nous verrons ensuite où l'on peut mettre en évidence les Brucella. En effet, si on les recherche avant tout dans le sang, on les a aussi découvertes dans d'autres liquides normaux ou pathologiques et dans certains tissus de l'organisme.

3° Enfin, nous essayerons de préciser la date d'apparition du germe, le pourcentage d'hémocultures positives, la valeur et la durée de la présence des Brucella dans le sang ou ailleurs.

### 1° Les Brucella

Il est inutile de répéter une fois de plus l'historique des germes en cause dans la Mélitococcie, et comment le Micrococcus Mélitensis (Bruce), agent de la fièvre de Malte, le Bacillus Abortus Bovis (Bang), responsable de l'avortement épizootique des bovidés, et le Bacillus Abortus Suis (Traum) de l'avortement des truies, ne

soint que les variétés d'un même germe, du genre Brucella, ainsi que l'a montré Miss EVANS.

Cependant, pour certains auteurs, différents procédés permettaient de distinguer le Mélitensis de l'Abortus. En particulier, on avait proposé : la légère agglutinabilité de l'Abortus par la chaleur (BURNET), celle du Mélitensis par l'acide lactique à 1 % (VERCELLANA et ZANZUCCHI), et surtout l'épreuve de la saturation des agglutinines, et la plus grande résistance à la chaleur des agglutinines d'Abortus (FICAI et ALESSANDRINI).

Par contre, MEYER et SHAW [118], KHALED [94], BASTAI et CERRUTI [8], et bien d'autres, niaient la possibilité de distinguer Mélitensis et Abortus par ces méthodes. MEYER et SHAW proposèrent le nom de Brucella pour ces deux germes, auxquels est venu s'adjoindre l'Abortus Suis. Actuellement cette terminologie est adoptée partout.

En même temps que se discutaient les ressemblances et les différences entre les variétés du genre Brucella, se posait la question du Paramélitensis et plus tard et plus accessoirement, celle du Para-Abortus.

Le Paramélitensis, décrit d'abord par SERGENT, puis par NÈGRE et RAYNAUD, était défini comme un germe analogue au Mélitensis mais identifiable par l'épreuve de saturation des agglutinines (NÈGRE et RAYNAUD) [124] et plus apte que Br. Mélitensis à l'agglutination par la chaleur, par les sérums non spécifiques et par certaines substances chimiques (peptone, trypaflavine, fuschine basique).

Longtemps cette notion de Paramélitensis fut acceptée ; cependant déjà DE PARTEARROYO [131] faisait du

Paramélitensis un vrai Mélitensis difficilement agglutinable par perte de l'agglutinabilité au cours des repiquages. Plus tard HADLEY et PISU [134] pensèrent que le Paramélitensis n'était qu'une variante dissociée R de l'espèce Brucella Mélitensis, conception admise par tous à l'heure actuelle.

En somme, le Paramélitensis ayant disparu, les Brucelloses restent dues à trois germes d'un même genre, si proches qu'il est parfois difficile de les distinguer (Menechmes de la bactériologie de BURNET).

*Propriétés physiques :*

Du point de vue physique, les Brucella sont des cocci ou des bacilles mobiles, de 0,5 à 2 microns de long. HUDDLESON [78-79] a décrit une capsule autour de toutes les souches lisses des trois espèces. Mise en évidence à l'aide d'une technique à l'encre de Chine, cette capsule est plus grande dans les cultures jeunes et récemment isolées. Les vieilles cultures ou la variété R. de Brucella n'en contiennent pas. Par contre, MICKLE [120] n'a pas retrouvé cette capsule dans toutes les souches lisses.

On a décrit une variante d'aspect visqueux, mucoïde, de Brucella Mélitensis. PLASTRIDGE et MAC ALPINE [135], HUDDLESON [80] l'ont obtenue par repiquage ; SFORZA [155], directement à partir d'une hémoculture. Pour lui la propriété muqueuse des Brucella est due à une hypertrophie de la capsule. A partir de la souche muqueuse, on peut obtenir la souche lisse initiale.

Pour SARNOWIEC [150] il existerait une forme filtrable de Brucella Abortus dans les milieux additionnés de tuberculine.

Germes Gram négatif, les Brucella pourraient être

colorées en rouge vif sur fond vert, par la méthode de KOZIOWSKY [97] (coloration à chaud avec une solution aqueuse à 2 % de safranine ; après lavage, recoloration du fond par une solution aqueuse à 1 % de vert malachite).

*Propriétés biochimiques :*

HUDDLESON [81-85] le premier, a montré les caractères qui permettent de différencier les trois espèces de Brucella. Depuis, d'autres propriétés distinctives ont été décrites, mais en pratique l'on en reste toujours aux premières méthodes proposées, c'est-à-dire :

— *La recherche des besoins de $CO^2$ :* alors que Br. Mélitensis et Br. Abortus Suis poussent facilement à l'air libre, Br. Abortus Bovis ne se développe, du moins dans les cultures initiales, que dans une atmosphère enrichie de 10 % de $CO^2$.

— *La recherche de la réduction de $SH^2$ :* Elle se mesure par le noircissement d'un papier à l'acétate de plomb placé dans le tube de gélose au foie.

Br. Mélitensis ne donne pas de $SH^2$ ou en donne pendant moins de 24 heures. Br. Abortus Bovis en donne pendant 2 jours et Br. Abortus Suis pendant 4 jours et en grande quantité.

— *La recherche de l'action bactériostatique des colorants :* Le premier colorant étudié par HUDDLESON et ABELL [82] a été le violet de gentiane. Ensuite ont été employés par HUDDLESON et FOREST [84], puis MEYER et ZOBELL [119], d'autres colorants actuellement encore en usage.

Leur proportion dans le milieu de culture varie un peu selon les auteurs, ce fait tenant essentiellement à la

marque employée. Nous allons rapporter les taux de colorants cités par TAYLOR, LISBONNE et ROMAN [168] qui utilisent un milieu de gélose au foie de P.H. = 6,6, additionné de pyronine à 1/200.000, de violet de méthyle à 1/100.000, de thionine à 1/30.000 et de fuschine à 1/25.000, colorants préparés par « National Anilin Chemical C° » ainsi que l'a recommandé HUDDLESON. Br. Mélitensis n'est pas, ou est peu, inhibé par ces différents colorants ; Br. Abortus Bovis ne pousse pas sur le milieu à la thionine mais pousse bien sur les autres ; inversement Br. Abortus Suis pousse sur le milieu à la thionine et ne pousse pas sur les autres.

Récemment CRUICKSHANK [37] a repris ces travaux, en ensemençant à l'un de leurs angles des bandes de papier filtre imbibées des colorants à éprouver et incluses dans une plaque de gélose au foie. Il est arrivé aux mêmes conclusions.

Si l'étude de ces trois moyens de différenciation ne permet pas toujours de ranger une Brucella dans telle ou telle variété, ces recherches n'en sont pas moins les meilleurs procédés actuels de classification.

— Les auteurs italiens se sont beaucoup attachés à *l'étude du milieu à l'œuf de* PÉTRAGNANI. D'après Maria de SANTIS [149], sur ce milieu, Br. Mélitensis pousse bien et rapidement en provoquant un virage du vert clair au vert foncé ; Br. Abortus et Br. Suis ne poussent pas ou poussent mal en faisant virer le milieu au jaune.

Beaucoup, BRUSCHETTINI [21] - TOSATI [173] - FORESTI [61], sont d'accord avec de SANTIS sur la valeur de cette méthode qui donnerait 95 % de bons résultats (LISBONNE) [110].

Cependant, dans l'ensemble, elle est moins sûre que celle de HUDDLESON (VITTONE) [179] et de toutes façons il ne faut s'attacher qu'à la rapidité de la pousse et non au changement de couleur du milieu (PAGNINI) [129], (LABRANCA) [101].

*Milieux de culture :*

Si les Brucella poussent sur les milieux banaux après plusieurs repiquages, à l'isolement de l'organisme, elles demandent des conditions spéciales.

Les milieux les plus anciennement utilisés sont le bouillon et la gélose au foie, proposés par STAFSETH [164], repris par HUDDLESON.

OLITZKI et GUREVITCH [126] ajoutent au bouillon ordinaire, de la glycérine qui favorise le développement des germes non seulement en tant que glucide, mais en modifiant la viscosité du milieu.

Pour PANGALOS [130] et DEMETRIO [46] la gélose au lait (10 %) donne de bons résultats.

GOULD et HUDDLESON [70] cultivent les Brucella dans le sang même où ils les recherchent (10 cc. de sang et 10 cc. de solution de citrate de soude à 4 %).

Actuellement on emploie beaucoup la gélose additionnée de bacto-tryptose, dont CASTANEDA [31] propose la formule suivante : Tryptose Bacto : 20 gr., Cl Na : 0,5 gr., Citrate de Soude : 0,5 gr., Gélose : 3 gr., Eau distillée : 100 gr.

Il met 15 cc. de ce milieu dans des flacons rectangulaires, aplatis, couchés de façon que la gélose se dépose sur une des parois latérales. Il ajoute alors 10 cc. de

bouillon contenant 2 % de bacto-tryptose et 2 % de citrate de soude. Après ensemencement, le mélange sang et bouillon est dispersé à la surface de la gélose, puis le flacon est placé à l'étuve en position verticale. Chaque jour, le bouillon est étalé à la surface de la gélose, et le récipient replacé en position verticale. Cependant SCHUHARDT, RODE, FOSTER et OGLESBY [153] signalent que dans certains lots de Tryptose Difco existe un facteur antibrucellique qui empêche partiellement ou totalement la pousse du germe. D'où la nécessité de vérifier au préalable les peptones employées.

Quel que soit le milieu utilisé, l'ensemencement se pratique avec 10 cc. de sang ou du liquide à examiner. Les flacons sont mis à l'étuve à 37° en atmosphère de $CO^2$. Les repiquages se pratiquent sur gélose au foie, elle-même placée en atmosphère de $CO^2$. Ils ont lieu tous les 2 jours (Mac CULLOUGH) [38], tous les 3 jours (POSTON) [136], tous les 4 jours (GOULD et HUDDLESON) [70], ou mieux toutes les semaines pour la majorité des auteurs. E. ENJALBERT et MONNIER [60] signalent qu'avec de l'habitude, on peut constater la probabilité d'une pousse microbienne à la couleur violacée du sang déposé au fond du flacon de culture, ce qui évite les repiquages inutiles tant que le sang reste rouge vif.

Si des colonies apparaissent 24 à 48 heures après l'ensemencement, il s'agit presque sûrement d'une souillure ; à partir du troisième jour, c'est probablement une salmonella qui est en cause, plus rarement un staphylocoque ou un streptocoque ; en général les Brucella demandent 6 jours pour pousser (CASTANEDA) [31]. Il faut ensuite identifier leur variété par les techniques d'HUDDLESON.

Nous n'insisterons pas sur la notion actuellement bien connue du développement quelquefois très tardif des Brucella. D'après LISBONNE [111] en effet : 70 % des hémocultures positives le sont dans la première décade, 24 % dans la deuxième, 6 % à la fin de la troisième. Quelquefois même le germe ne pousse que un mois et demi après l'ensemencement.

*Inoculation à l'animal :*

La recherche des Brucella peut se faire aussi par inoculation directe à un cobaye, du produit à examiner (injection sous-cutanée ou intrapéritonéale).

L'animal ne présente pas de lésion locale, mais d'emblée contracte une infection chronique avec dissémination dans le système réticulo-endothélial. Il est sacrifié au bout de 2 à 4 mois. Les lésions histologiques sont variables et ne permettent pas le diagnostic, mais les germes peuvent être mis en évidence dans le sang et les différents organes du cobaye, en particulier dans la rate. Les tissus doivent être hachés, réduits en pâte dans un mortier stérile et délayés de façon à donner une émulsion qui est utilisée pour la culture, car, lorsque le milieu est ensemencé avec de grands morceaux de tissu le germe est rarement isolé, alors même qu'il est présent (COVENTRY) [36]. Les cultures qui ont poussé sont ensuite identifiées par les méthodes d'HUDDLESON.

Enfin, pour isoler les Brucella à partir de certains liquides organiques, dont la culture banale est souvent décevante en raison de la présence de nombreux germes, METZGER, BEAUDETTE et STOKER [117] ont utilisé l'ensemencement sur l'œuf en incubation au 10e jour. Les

embryons survivent 90 à 120 heures. Les germes retrouvés sont en majorité intra-cellulaires, dans les mononucléaires et les cellules épithéliales ectodermiques (BUDDINGH et WOMACK) [22].

2° LA LOCALISATION DES BRUCELLA DANS L'ORGANISME

Pour établir le diagnostic d'une fièvre de Malte, avant tout on cherche à mettre en évidence les Brucella

— dans le sang et les liquides normaux de l'organisme,
— dans les liquides pathologiques, s'il y en a,
— et enfin dans certains tissus.

*Les liquides normaux :*

C'est dans *le sang* que les germes ont été tout d'abord recherchés, c'est là qu'ils sont retrouvés le plus facilement. Mais il faut souvent répéter les hémocultures. Si pour Mac CULLOUCH [38] il est nécessaire de faire un prélèvement journalier pendant 7 à 10 jours, d'autres préfèrent pratiquer un prélèvement hebdomadaire.

Exceptionnellement on peut mettre en évidence les Brucella dans les caillots sanguins envoyés pour le séro-diagnostic. La culture se fait sur les milieux ordinaires où l'on peut ajouter du cristal violet pour éliminer les germes gram positif particulièrement sensibles aux colorants (WEST et BORMAN) [180].

Enfin, on obtient parfois les Brucella par culture du sang artériel après injection sous-cutanée d'adrénaline ; vingt minutes plus tard, on effectue la ponction de l'artère (Mac CULLOUGH) [38].

Il est beaucoup plus difficile du point de vue technique, et plus rare, de retrouver les germes dans les autres humeurs de l'organisme. La recherche dans les *urines* est préconisée par ALESSANDRINI et PACELLI [1] - RANQUE et SENEZ [141] - BLASI et SCOTTI [15]. Exceptionnellement on la pratique dans la *bile*, les *selles*, les *sécrétions vaginales*, le *liquide prostatique*, le *lait*.

La présence des Brucella dans le *liquide céphalo-rachidien* prête à discussion. Cet examen qui se fait en raison de signes méningés ou d'une localisation nerveuse ou osseuse, est toujours négatif pour RIMBAUD et JANBON [143] même lorsque l'hémoculture est positive à ce moment. Par contre, pour d'autres, les germes peuvent être mis en évidence par les méthodes banales (BINGEL et JACOBSTHAL) [13], (GUINCHI et LIOTTA) [69], ou par l'artifice suivant : le liquide céphalo-rachidien est mélangé à du sérum antibrucella de lapin et porté à l'étuve pendans 30 minutes ; le précipité obtenu est ensemencé sur les milieux habituels (POSTON et SMITH) [137]. Enfin, on a préconisé la recherche des brucella par inoculation à l'embryon de poulet : SPINK [163] obtient ainsi des cultures positives chez des malades dont le liquide est cytologiquement normal.

*Les liquides pathologiques :*

Dans les différentes séreuses (synoviale, plèvre, péritoine) se produisent parfois des épanchements à germes spécifiques. Les Brucella peuvent encore être retrouvées dans le pus d'abcès provenant du tissu cellulaire ou d'un organe (ganglion, vésicule biliaire, vertèbre, articulation).

*Les tissus :*

On a aussi recherché les Brucella dans certains tissus. On les a mises en évidence dans la moëlle osseuse prélevée par sterno-ponction (SIGNORELLI), les ganglions superficiels après ponction et aspiration, ou après biopsie (DURAN DE COTTES, HARDY, JORDAN et BORTS), la rate, le foie (aspiration à l'aiguille sous couvert ou non d'une péritonéoscopie — excision chirurgicale — SPINK [162]). On a fait aussi la culture du placenta humain.

Aux résultats de l'examen bactériologique peuvent s'adjoindre quelquefois les renseignements donnés par l'étude histologique.

Si l'on analyse les lésions rapportées chez l'animal ou chez l'homme, on voit que certains décrivent des granulomes pseudo-tuberculeux de la rate, des ganglions, du foie (BURNET [23] - MIRRI [121] - ROSSLE [147]), d'autres, au contraire, rapportent surtout ou uniquement des lésions infectieuses banales.

Ces différences s'expliquent, d'après CERUTI [34], par le fait que les auteurs ne voient qu'un seul stade de l'infection et ne suivent pas le développement du phénomène. Pour lui, dans les cas jeunes (un mois) on trouve des lésions infectieuses banales avec vaso-dilatation et hémorragies. Au deuxième mois se produit une réaction du système réticulo-endothélial avec formation de granulomes à cellules géantes et épithélioïdes, qui diffèrent des granulomes tuberculeux par leur taille plus petite et par l'absence de caséification. Enfin, dans un troisième stade, se produit la sclérose.

Mais, pour CERUTI lui-même, ceci n'est qu'un schéma. Il existe des particularités variables selon l'organe

(les cellules géantes se localisent presque uniquement dans le foie, la rate et les ganglions), selon le germe (Br. Abortus provoque la formation de cellules géantes beaucoup plus souvent que Br. Mélitensis), et selon le terrain (importance de l'allergie tissulaire).

### 3° Valeur de la présence des Brucella dans l'organisme

*Présence des Brucella dans le sang.*

A. - *Date d'apparition des germes dans le sang :*

Elle ne peut être calculée que si l'on a affaire à une inoculation accidentelle ou expérimentale connue. L'incubation varie avec la voie d'apport (conjonctivale, digestive, cutanée ou sous-cutanée), avec le germe et le terrain. Elle est de 5 jours (Shaw) à 2 mois (Gilman) [67].

Quant à l'hémoculture, elle est en général positive dès le début des signes cliniques (Ranque et Senez) [141]. Quelquefois cependant ce n'est qu'au bout de plusieurs mois de fièvre que l'on peut mettre en évidence les brucella dans le sang. Mac Cullough rapporte un cas où l'hémoculture fut négative pendant les six premiers mois de la maladie. D'après Dalrymple-Champneys [41], Miss Evans présenta une fièvre ondulante pendant plus de sept ans et ce ne fut qu'à la fin que l'hémoculture devint positive.

B. - *Pourcentage d'Hémocultures positives :*

Il varie avec le germe en cause, le stade et la forme clinique de la maladie, et enfin avec les auteurs.

Pour Br. Mélitensis, Shaw [156] a retrouvé le ger-

me dans 68 % des cas chez 103 malades (il a signalé le phénomène du bond : présence de Brucella dans les dilutions très fortes, absence dans les dilutions faibles). D'après LISBONNE [111], il y aurait 100 % d'hémocultures positives chez les malades ayant des signes cliniques de Mélitococcie récente. Ces bons résultats ne se retrouvent pas dans les formes prolongées. Dans l'ensemble le pourcentage des résultats positifs est d'environ 45 à 50 %. Par contre, pour E. ENJALBERT et MONNIER [60] ces taux sont loin d'être atteints.

Quant à l'Abortus, on le retrouve dans 25 % des cas (SPINK), dans 10 à 15 % seulement des cas fébriles, pour HARRIS.

Dans l'ensemble l'hémoculture est plus souvent positive à la phase de début. Cependant, on n'a pu établir aucune relation définie entre une étape de la maladie et la présence de germes dans le sang (SHAW) [156].

Malgré l'avis de JULLIEN et LAURENT [93] qui pensent que l'hémoculture est toujours négative s'il n'y a pas de fièvre, s'il est peu fréquent d'avoir un cas prouvé bactériologiquement chez un malade apyrétique, l'hémoculture peut être positive quelle que soit la courbe thermique (LISBONNE) [111]. DEBONO et DALRYMPLE-CHAMPNEYS [41] rapportent des cas où ils mettent en évidence les germes dans le sang, malgré une évolution non fébrile de toute la maladie.

Enfin, on peut obtenir une inoculation positive chez l'animal, à partir de sang présumé stérile par les examens habituels. POSTON [136] inocule des cobayes avec le sang de 14 malades soupçonnés de Brucellose.

Alors que 3 malades seulement ont une hémoculture positive 5 (dont ces 3) infectent le cobaye.

Voyons maintenant les résultats de la culture, non plus du sang total, mais du caillot sanguin envoyé pour un séro-diagnostic.

GILBERT et DACEY [66] isolent une brucella d'un caillot, 3 semaines après le début de la maladie. Ce germe est agglutiné par le sérum anti-abortus mais non par le sérum du malade.

SILBERSTEIN [158] rapporte une étude faite sur 117 sujets présentant un séro-diagnostic positif pour la fièvre de Malte. Il trouve 86 souillures, 28 cultures stériles et 3 bacilles de Bang qui poussent 2 ou 3 semaines après l'ensemencement du milieu.

Sur 4.051 échantillons de sang examinés par WEST et BORMAN [180], il y a 40 cultures positives pour Br. Abortus et 2 pour Br. Suis. Le pourcentage de succès est donc de 1 % environ (il est à noter que ces caillots sanguins proviennent de malades ayant des affections diverses).

Une importante statistique faite par DAMON [42] donne des résultats beaucoup plus faibles. En effet, sur 7.906 sangs à agglutinines positives il n'y a que 25 cultures positives soit 0,3 %, sur 7.393 sangs à agglutinines négatives, 2 cultures positives.

C. - *Valeur de l'Hémoculture :*

Une hémoculture négative n'exclut nullement une Brucellose ; nous avons vu qu'elle est quelquefois très longue à se positiver et souvent toujours négative, en particulier quand il s'agit de Br. Abortus.

Par contre une hémoculture positive affirme la maladie d'une façon absolue.

D. - *Durée de la positivité de l'Hémoculture :*

Elle est extrêmement variable. Souvent les germes ne persistent dans le sang que quelques semaines. Par contre, dans une observation qu'il nous a communiquée, M. le Pr. ANDRIEU note, au coure d'une fièvre de Malte à forme septicémique pure, la positivité de l'hémoculture au 1er, 2e, 3e et 4e mois de la maladie, même en phase d'apyrexie, suivie il est vrai de rechute fébrile. SHAW [156] - LEMIERRE, MARCHAL et JAUBERT [105] rapportent des cas où les Brucella sont retrouvées au 6e mois de l'affection ; DEBRÉ, MARIE, GIRARD [45] au 8e mois.

L'hémoculture peut être positive aux dernières phases de la maladie ou même quelque temps après la guérison apparente (OLIN). La disparition spontanée ou thérapeutique des Brucella du sang n'implique d'ailleurs pas une guérison. En effet, malgré la négativité de l'hémoculture, la maladie peut continuer à se manifester par des localisations viscérales. D'ailleurs une hémoculture négative peut redevenir positive. Ceci est assez fréquent quand la fièvre de Malte n'est pas terminée cliniquement (observation de JANBON et BERTRAND [90], où, alors que l'hémo et l'adéno-culture étaient devenues négatives, deux rechutes successives avec hémoculture positive se produisirent que pouvait laisser prévoir la persistance d'adénomégalies). Mais il est des cas où, alors que la guérison clinique et biologique d'une fièvre de Malte est admise depuis longtemps, on voit apparaître une nouvelle poussée avec hémoculture posi-

tive. Evidemment là se pose la question du diagnostic de rechute d'une Mélitococcie ou de récidive, question souvent insoluble.

*Présence des Brucella dans le reste de l'organisme*

Si la mise en évidence des germes dans le sang est le procédé le plus commode pour faire le diagnostic d'une mélitococcie, leur présence dans une autre partie de l'organisme a tout autant de valeur ; elle est même plus importante dans certains cas, car elle peut précéder la positivité de l'hémoculture, exister en dehors d'elle ou lui survivre.

Ainsi BINGEL et JACOBSTHAL [13] rapportent un cas de méningite où le liquide céphalo rachidien contient une culture pure de bacille de BANG, alors que l'hémoculture est négative. C'est dans une hydarthrose que BAKER [5] le premier isole Br. Abortus ; ANTONINI et COULON [3] y décèlent Br. Mélitensis 5 mois après le début de la maladie. PUECH et VIDAL [138] trouvent des germes dans un épanchement pleural survenu un mois après la terminaison apparente d'une fièvre de Malte, alors que l'hémoculture redevient positive. On isole des Brucella d'une ascite (JANBON et BALMES) [89], d'une spondylite suppurée (KULOWSKI et VINKE) [99], d'une arthrite suppurée (O. DONOGHUE) [51]. Dans une de ses observations, M. le Pr. ANDRIEU rapporte l'histoire d'un malade hospitalisé pour une mélitococcie ayant débuté 5 mois auparavant ; le malade présentait de la fièvre, des adénopathies et une tuméfaction douloureuse d'une fesse au niveau d'un point d'injection de pénicilline. Tout rétrocède après un traitement par 25 gr. d'Auréomycine. Mais 2 mois après la guérison apparente se forme un

abcès de la fesse où l'on peut mettre en évidence par culture Br. Mélitensis.

Si nous envisageons l'examen des différents tissus, nous voyons que la myéloculture donne des résultats plus constants et plus précoces que l'hémoculture pour BLASI et SCOTTI [16] - Mac CULLOUGH [38]. Ce dernier rapporte des cas d'adénoculture positive, alors que des recherches répétées dans le sang restent sans résultat. JANBON et BERTRAND [90], pour qui les adénomégalies sont très fréquentes dans la fièvre de Malte (sur 55 Brucelloses à Mélitensis, 23 adénomégalies, soit 42 %), ne trouvent, sur 13 ganglions prélevés, qu'une seule réponse négative. Dans un cas, l'adénoculture est positive alors que l'hémoculture ne l'est pas. Ultérieurement, JANBON, BERTRAND et SALVAING [91] rapportent 7 cas de Brucellose avec adénopathies simulant une tuberculose, où la culture des ganglions donne chaque fois et rapidement Br. Mélitensis. Dans une arthrite de la hanche, c'est par culture d'un fragment de la synoviale que COVENTRY, IVINS, NICHOLS et WEED [36] mettent en évidence Brucella Suis, alors que le liquide de ponction et le sang (3 prélèvements) restent stériles.

La présence de germes ailleurs que dans le sang a-t-elle une valeur absolue de diagnostic ? Oui, s'ils sont trouvés dans une localisation telle que pleurésie, arthrite, qui signe la persistance d'une infection active. Mais, alors que la guérison clinique est obtenue, il peut persister quelque temps dans l'organisme des Brucella, mises en évidence par myéloculture par exemple, qui ne seront pas à l'origine d'une manifestation pathologique ultérieure.

Enfin, on a découvert des germes dans les tissus

de sujets n'ayant jamais eu de signes cliniques de Mélitococcie. C'est ainsi que WISE et POSTON [181] trouvent Br. Mélitensis ou Br. Abortus Suis dans des ganglions hogdkiniens. A la suite de ce fait, MAC VAY, GUTHRIE, MICHELSON et SPRUNT [175] cultivent systématiquement certaines pièces opératoires. Sur 34 prostates ils isolent 3 fois des Brucella et sur 43 trompes de Fallope, une fois. Les quatre sujets chez lesquels on a trouvé ces germes ont un séro-diagnostic négatif et une intradermo-réaction positive. Dans leurs antécédents on note une vie rurale et une consommation de lait cru. S'agit-il là de porteurs de germes sains, ou de sujets ayant fait une Brucellose méconnue ?

## *CHAPITRE II*

# LA RECHERCHE DES REACTIONS D'IMMUNITE

Les Brucella pénétrant dans l'organisme, qu'elles provoquent ou non une infection reconnue, déterminent dans celui-ci l'apparition de réactions de défense qui se traduisent par des modifications sérologiques : présence d'agglutinines, d'anti-corps fixateurs du complément ou précipitants, d'opsonines, augmentation du pouvoir bactéricide.

Ce sont ces anticorps que l'on cherche à mettre en évidence par les différentes réactions que nous allons envisager successivement en nous attachant surtout à l'étude du séro-diagnostic qui est de loin l'examen le plus pratique et le plus fidèle.

### 1° Le séro-diagnostic

Nous examinerons d'abord les méthodes de recherche des agglutinines dans le sang, puis les liquides, autres que le sang, où l'on peut trouver des agglutinines et enfin les résultats obtenus et leur interprétation.

#### A) *Les méthodes de séro-diagnostic*

A côté du séro-diagnostic lent de Wright, on peut pratiquer le séro-diagnostic rapide, proposé par Huddleson et dont on a préconisé des variantes que nous allons envisager successivement.

a. - *Le séro-diagnostic lent de* Wright :

*L'Antigène :* alors qu'en Amérique les antigènes varient selon les laboratoires, ce qui fait regretter à Harris [74] et à Mac Cullough [38] leur manque de standardisation, en France on utilise un antigène unique. Il s'agit d'une souche éprouvée, lisse (c'est l'emploi d'une souche R qui est à l'origine de certaines erreurs), agglutinable par les seuls sérums spécifiques, stable aux différents repiquages (souche P. 900 de l'Institut Lister, dont la manipulation est inoffensive). Voici comment l'antigène est préparé par le C.R.F.O. (Carrère et Quatrefages) [29]. Une culture de 48 à 72 heures de la souche P. sur milieu de Stafseth est mise en suspension dans l'eau salée à 8,5 pour mille, chauffée à 60° pendant 1 heure et diluée dans l'eau salée formolée de façon à obtenir une opacité de 280° au photomètre de Vernes. Tout récemment, Carrère, Renoux et Quatrefages [30], signalent qu'ils abandonnent la tryptose-agar comme milieu de culture pour la préparation de l'antigène, car ils ont noté deux inconvénients possibles,

rares, mais graves : inhibition de l'agglutinabilité des Brucella, ou transformation rapide et totale des souches lisses en souches R. spontanément agglutinables.

*Le sérum :* On peut utiliser le sérum ou le plasma citraté (vénule de 15 cc. renfermant 1 cc. 5 de citrate à 10 %, préconisée par LISBONNE [112]). Le chauffage du sérum pour éliminer les agglutinines non spécifiques est inutile.

On peut aussi utiliser le sang desséché (BIANCHI [11] -SIRK [159]).

*La réaction :* dans une galerie de 10 tubes on réalise des dilutions de sérum, eau salée à 8,5 pour mille, et suspension microbienne, de façon que la dilution finale du sérum soit de 1/10 à 1/5.120. Un tube témoin est préparé pour vérifier la stabilité de l'antigène. D'après CARRÈRE et QUATREFAGES [29], le phénomène d'agglutination paradoxale qui s'observe fréquemment dans le séro-Wright disparaît le plus souvent si l'on remplace l'eau salée à 8,5 pour mille par l'eau salée à 50 pour mille. La lecture se fait après une nuit d'étuve à 37°.

b. - *Le séro-diagnostic rapide :*

Depuis HUDDLESON qui a proposé la méthode, différentes modifications ont été apportées soit à l'antigène, soit au sang du malade. Nous allons voir en effet qu'à la place du sérum primitivement employé, on peut utiliser le sang total, frais ou desséché.

— *Emploi du sérum sanguin :*

Le premier *antigène* de HUDDLESON et ABBEL [83] est une émulsion microbienne en eau salée à 12 %, phé-

nolée à 0,5 %, toujours de même densité, additionnée de violet de gentiane à 1/10.000 et chauffée à ébullition.

Ultérieurement une modification est apportée par HUDDLESON qui ajoute à la suspension microbienne du violet de gentiane à 1/50.000, du vert brillant à 1/25.000 et de la gélatine pour stabiliser le tout.

BASSET [6] insiste sur la nécessité d'un bon étalonnage de l'antigène rapide et sur la nécessité d'une concentration plus forte que pour l'agglutination lente.

Un antigène desséché sur une plaque de verre et redissous dans le sérum à étudier est proposé par DONHAM et FITCH [49].

*La réaction* peut se faire dans 5 petits tubes contenant respectivement 0 cc. 08, 0 cc. 04, 0 cc. 02, 0 cc. 01 et 0 cc. 004 de sérum et une goutte d'antigène de sorte que les concentrations terminales sont grossièrement de 1/25, 1/50, 1/100, 1/200 et 1/500. On lit après avoir agité 10 secondes. On peut aussi rechercher l'agglutination sur une lame divisée en carrés. Dans chaque carré on réalise les mêmes dilutions d'antigène que dans les tubes. L'agglutination se produit en 2 à 5 minutes

— *Emploi du sang total frais :*

Le premier, HUDDLESON indique la possibilité de séro-diagnostic rapide avec le sang frais. Après mélange de 0 cc. 01 de sang et d'une goutte d'antigène, on voit apparaître de petits flocons rouges en une minute si la réaction est positive.

Pour éviter la coagulation du sang, DIERNHOFER ajoute du citrate de soude ou de l'oxalate de potassium à l'antigène formolé.

C'est le même antigène (Brucella Abortus émulsionné en solution de citrate à 10 % et additioné de 0,2 % de formol) qu'a repris BRUMPT [20]. On mélange une grosse goutte d'antigène et une petite goutte de sang sur une lame que l'on agite. En 1 à 4 minutes les hématies se rassemblent au centre, tandis qu'à la périphérie il se forme une collerette de grains blancs constitués par les amas microbiens.

G. GUY [73] rapporte dans sa thèse la technique employée par le C.R.F.O. : une goutte de l'antigène de BRUMPT coloré par du bleu de SABRAZÈS est ajoutée à 1, 2 ou 3 gouttes de sang déposées à l'aide d'une anse de 2 à 4 mm. de diamètre, ce qui donne à peu près les taux de 1/300, 1/150 et 1/100. L'agglutination se fait en 1 à 2 minutes.

*— Emploi du sang desséché :*

Enfin, on peut rechercher l'agglutination rapide du sang desséché, soit recueilli sur papier absorbant puis redissous en eau physiologique (BIANCHI) [11], soit recueilli sur lame et dissous directement dans l'antigène. Les préparations desséchées conservent leur pouvoir agglutinant pendant une à deux semaines (SIRK) [159].

### B) *Les liquides autres que le sang où peuvent être cherchées les agglutinines*

En dehors du sérum ou du sang total sur lesquels sont faites les recherches dans la très grande majorité des cas, on peut mettre en évidence les agglutinines dans d'autres humeurs de l'organisme, normales ou pathologiques. On utilise surtout la méthode d'agglutination lente, mais la méthode rapide est aussi possible.

C'est le liquide céphalo-rachidien qui est le plus étudié. La brucellose méningée se traduit, en dehors de l'albuminorachie souvent importante (0,60 à 8,30 gr.) et de la lymphocytose plus modérée (38 à 450 cellules) (RIMBAUD et JANBON) [143], par la positivité du séro-diagnostic.

Enfin, on peut pratiquer le séro-diagnostic sur un liquide de pleurésie, d'ascite ou d'hydarthrose.

### C) *L'interprétation des résultats*

Ici se pose toute une série de questions que nous allons essayer d'envisager successivement.

a. - *Date d'apparition des agglutinines sanguines :*

Le laps de temps minimum indiqué est de 5 jours. (DALRYMPLE-CHAMPNEYS) [41]. Dans la majorité des cas il est de 10 à 15 jours, mais quelquefois le séro-diagnostic est positif seulement après 5 mois (LAUDA) [10] ou même après un an de maladie (DALRYMPLE-CHAMPNEYS).

b. - *Taux valables :*

A partir du moment où les agglutinines apparaissent dans le sang, leur taux augmente progressivement. Le taux minimum qui permet de porter le diagnostic de Brucellose a été très discuté, comme la valeur même du séro-diagnostic, et il dépend de l'antigène et de la technique choisis. Ce taux allait de 1/50 (ROUSLACROIX) [148] 1/100 (KRISTENSEN) [98] à 1/200 (BURNET) [23] - (RANQUE et SENEZ) [141] et même 1/500 (VALLET et RIMBAUD) [174]. Actuellement on adopte en France et en Angleterre un titre de 1/80. Une agglutination entre 1/80 et

1/40 est douteuse, elle est négative au dessous. D'ailleurs un titre qui s'élève progressivement a plus d'importance que le taux d'agglutination pour le diagnostic d'une Brucellose active. Aux U.S.A. où l'antigène n'est pas standardisé, un même sérum, examiné par des laboratoires différents, donne souvent des réponses différentes (MAC CULLOUGH) [38] - (CARPENTER) [27].

Notons la possibilité d'agglutination paradoxale ou phénomène de zone, qui consiste en l'absence d'agglutination dans certains tubes de la réaction, alors que l'agglutination se manifeste à des dilutions plus grandes du sérum éprouvé. On peut observer, soit une absence d'agglutination dans les premiers tubes, soit une agglutination dans les premiers et dans les derniers tubes sans agglutination intermédiaire. Cette éventualité, assez fréquente dans la pratique du séro-Wright, a été attribuée par les uns à l'antigène, par les autres au sérum.

Pour LEONARDI [108] les Brucella récemment isolées contiendraient une substance empêchant l'agglutination. Cette substance serait soluble dans l'eau pure ou additionnée de petites quantités de colloïdes et elle n'empêcherait pas l'agglutination par les sérums très dilués. Mais, imparfaitement soluble en présence de colloïdes sériques à une concentration assez élevée, elle provoquerait ainsi l'inhibition de l'agglutination aux dilutions les plus faibles du sérum.

Par contre, pour RENOUX [142], le phénomène d'agglutination paradoxale serait dû, au moins en ce qui concerne le cas où l'inhibition se produit dans les premiers tubes, à la présence d'anticorps bloquants dans le sérum éprouvé. L'emploi, dans la pratique du séro-diagnostic, d'eau hyperchlorurée à 5 % au lieu de 0,85 %

permet d'éviter l'agglutination paradoxale (TAYLOR, PHAIR et ROMAN - CARRÈRE et QUATREFAGES [29]). Ce faisant, on inhiberait l'action de l'anticorps bloquant.

c. - *Brucelloses sans agglutinines :*

Le séro-diagnostic est une réaction très fidèle qui cependant reste négative dans un certain nombre de cas de Brucellose active et patente, sans qu'il s'agisse naturellement de Mélitococcie au début où les anticorps n'ont pas fait leur apparition (COVENTRY [36] - DALRYMPLE-CHAMPNEYS [41]). La proportion de ces séro-diagnostic négatifs, de ces « ratés » comme dit LISBONNE, a diminué depuis BURNET qui en admettait 20 à 25 %. Actuellement le chiffre donné par tous les auteurs est de 10 % environ.

Pour GRIFFITHS [71], ces réactions négatives sont dues à la présence d'anticorps bloquants. Il signale l'analogie entre les insuccès du séro-diagnostic mélitococcique et ceux relevés avec les sérums de mères Rh négatives dont les enfants ont une érythroblastose fœtale alors qu'on ne décèle pas d'agglutinines anti Rh. WIENER et RACE ont expliqué ce fait par un bloquage des agglutinines anti-Rh. De même GRIFFITHS a trouvé des anticorps bloquants chez des sujets atteints de Brucellose. Les sérums ayant montré des propriétés bloquantes pour l'agglutinine perdent celles-ci quand on remplace l'eau physiologique par le sérum de lapin pour la dilution en vue du titrage ou pour la suspension des Brucella. Les sérums de mélitococciques agglutinent les émulsions épaisses de Brucella si celles-ci sont faites dans le sérum ou dans une dilution d'albumine, même si les essais d'agglutination en tubes avec l'eau salée ont été négatifs.

RENOUX [142] a repris ces travaux et arrive aux mêmes conclusions : le sérum de sujets brucelliques, dont le séro-Wright est négatif contient des anticorps bloquants qui n'existent pas dans les autres maladies. Les suspensions de Brucella sensibilisées par ces anticorps bloquants sont rendues inagglutinables par un sérum spécifique anti-brucella. La suspension de Brucella en sérum humain est directement agglutinée par de tels sérums contenant des anticorps bloquants.

d. - *Rapports du Séro-diagnostic et de l'Hémoculture :*

D'une façon générale on admet qu'il n'y a aucun rapport entre le pouvoir agglutinant du sérum et la présence ou l'absence de Brucella dans le sang (SHAW) [156]. Cependant, de la statistique dressée par LISBONNE [112] après examen de 1300 sérums, il ressort que la proportion d'hémocultures positives augmente avec le taux d'agglutination.

| Réactions d'Agglutination | Hémoculture + : | % d'Hémocultures + : |
|---|---|---|
| Négatives = 500 | 11 | 2,2 |
| Positives à 1/10 = 30 | 4 | 13,2 |
| — à 1/20 = 36 | 7 | 19,4 |
| — à 1/40 = 39 | 16 | 41 |
| — à 1/80 = 89 | 43 | 48,3 |
| — à 1/160 = 115 | 57 | 49,6 |
| — à 1/320 = 145 | 73 | 50,3 |
| — à 1/640 = 139 | 72 | 51,8 |
| — à 1/1280 = 207 | 114 | 55,1 |

e). - *Durée des agglutinines dans le sérum :*

Les agglutinines, dont le taux augmente au début de la maladie souvent jusqu'à 1/1000 et plus, vont diminuer

petit à petit mais persister quelque temps après la guérison clinique (cas de COVENTRY [36] où 21 mois après le début de la maladie et 9 mois après la guérison clinique l'agglutination était de 1/80 au lieu de 1/800).

Le temps nécessaire à la négativation du séro-diagnostic est très variable selon les auteurs qui l'ont étudié. Pour DALRYMPLE-CHAMPNEYS [41] les agglutinines disparaissent du sang beaucoup plus rapidement qu'elles ne le font dans la typhoïde, mais sans précision de date. Le laps de temps nécessaire est de 3 à 4 mois pour RAINSFORD [140], de quelques mois à un an pour KRISTENSEN [98] - CARRÈRE et QUATREFAGES [29], de plusieurs années pour SASANO [151] - OLIN et FOSHAY.

Il semble difficile d'affirmer la guérison définitive d'une Brucellose tant qu'il persiste des agglutinines même à des taux non significatifs qui peuvent annoncer une rechute (DALRYMPLE-CHAMPNEYS — OLIN — FOSHAY). En effet, d'après ROLLE [144], chez l'animal les agglutinines ne peuvent être mises en évidence que pour autant que les bactéries spécifiques sont encore dans l'organisme.

Par ailleurs, même un séro-diagnostic négatif ne peut faire affirmer la guérison, car les agglutinines peuvent disparaître alors qu'il persiste des Brucella dans certains gîtes microbiens (JULLIEN et LAURENT [93] — COVENTRY [36]). Notons ici que RENOUX [142] a trouvé des agglutinines bloquantes dans le sang d'anciens malades à séro-diagnostic négatif. Il en conclut que la présence d'anticorps bloquants ne renseigne pas sur l'état clinique du sujet, mais sur le fait qu'il héberge des Brucella.

Enfin, comme dans la typhoïde, il est possible que, chez un ancien mélitococcique, à la faveur d'une infection ultérieure tout autre, les agglutinines soient légèrement et passagèrement réactivées (CARRÈRE et QUATREFAGES) [29]. Le problème est difficile à résoudre tant que l'on ne dispose pas d'un séro-diagnostic qualitatif comparable à celui de la typhoïde.

f. - *Agglutinines chez les vaccinés, chez les sujets-contact et après intra-dermo réaction :*

La question des agglutinines *après vaccination* contre la fièvre de Malte, beaucoup plus étudiée chez les animaux que chez l'homme, est très controversée.

*Les vaccins morts,* inefficaces pour la plupart des auteurs, ne donnent pas d'agglutinines dans l'organisme pour VELU et ZOTTNER [176], en produisent rarement et à des taux faibles pour BASTAI et ROTTA [9], et en donnent à un taux supérieur à 1/100 pendant 5 semaines pour THIERY [170], ceci chez l'animal.

Par l'expérimentation chez l'homme, BRAUDE et GOLD [18], puis BRAUDE, GOLD et ANDERSON [19] ont mis en évidence des agglutinines chez 4 sujets sur 23 ayant ingéré une dose massive de Brucella tuées, chez 11 personnes sur 36 ayant absorbé plusieurs fois du lait pasteurisé contenant 100 millions de germes et chez un seul individu sur 8 qui avaient ingéré plusieurs fois un million de germes morts, ce qui donne un pourcentage de 23,9 % de sujets ayant des agglutinines. Par contre MAC CULLOUGH, EISELE et BEAL [39] ne sont pas du même avis et chez les 30 volontaires sur lesquels ils ont expérimenté, ils n'ont jamais mis en évidence d'aggluti-

nines malgré l'ingestion des doses totales de 49 milliards de germes tués.

*Les vaccins vivants,* plus efficaces mais dangereux car ils risquent de créer une maladie vraie, entraînent chez l'animal la formation d'agglutinines qui persistent pendant plusieurs mois (VELU et ZOTTNER [176] — DUBOIS [53] — THIERY [170]). HOWE [77] rapporte l'observation de 17 travailleurs de laboratoire, vaccinés à leur arrivée. Alors que les agglutinines étaient nulles ou inférieures à 1/20, après vaccination elles atteignent le taux de 1/400 pendant 1 à 2 mois. Si une Brucellose est contractée, après 10 à 15 jours apparaissent des agglutinines qui atteignent des taux élevés, puis baissent ensuite ; 6 mois après l'infection les taux d'agglutination sont en moyenne de 1/400 à 1/600.

Comment faire la distinction, en milieu endémique, entre les agglutinines des infectés et des vaccinés ? Cette différenciation est basée chez l'animal sur les variations du taux des agglutinines après réinjection de vaccin. Pour VELU, ZOTTNER et SARTHOU [177], on voit réapparaître les agglutinines pour des durées et à des taux décroissants, à la suite de réinjections successives de vaccin. DICK, VENZKE et YORK [47] puis VENZKE [178] ont confirmé ces travaux. Chez l'animal infecté, saturé d'antigène, les réinjections de vaccins ne provoquent pas de nouvelles décharges d'anticorps. Par contre, les anticorps augmentent chez les sujets vaccinés non infectés. En pratique, on recherche le taux d'agglutinines actuel, qui doit être stable ; 13 jours après l'injection de vaccin on pratique un nouveau séro-diagnostic. Les sujets qui réagissent au vaccin par une élévation nette du taux des agglutinines ne sont pas infectés.

Proches des agglutinines des vaccinés sont celles observées *chez les sujets contact.* L'examen systématique de sérums envoyés pour d'autres raisons a montré la présence, à plusieurs reprises, d'agglutinines à des taux même significatifs chez des personnes en contact possible avec les brucella (travailleurs de laboratoire, vétérinaires, vachers, employés d'abattoir, sujets consommant du lait cru).

Voici les résultats de THOMSEN [171] se rapportant à l'examen du sérum de 272 personnes : 61 sujets sains, non en contact avec les Brucella, ou présentant une maladie autre que la Mélitococcie ont eu un séro-diagnostic négatif ; chez 65 vétérinaires exerçant leur profession depuis plus d'un an, le séro-diagnostic fut positif dans 65 % des cas ; dans une classe de jeunes vétérinaires n'ayant pas fait de pratique, toutes les réactions furent négatives ; par contre dans une autre classe, 5 mois après l'examen de sortie, il y eut 15 réactions positives sur 18. THOMSEN a encore trouvé un séro-diagnostic positif chez 10 bactériologistes sur 16, 13 vachers sur 21, 9 propriétaires de bétail sur 23, 5 bouchers sur 25.

HERRMANN, MIRSABEKJAN et MEGRABJAN [76] étudient le séro-diagnostic de 673 vétérinaires ; 42, c'est-à-dire 6,2 % présentent des agglutinines à un taux valable ; parmi eux on compte 11 malades actuels, 15 anciens malades et 16 sujets sans aucun antécédent.

Sur 130 sujets-contact LERCHE et LENTZE [109] trouvent 8 personnes (6 %) ayant des agglutinines pour le bacille de Bang.

STONE et BOGEN [165] arrivent à la proportion de

8 % d'agglutinines anti-abortus chez les sujets consommant du lait cru ; chez ces personnes, dans la moitié des cas il n'y a aucun signe clinique d'infection.

Ces sujets qui n'ont jamais eu de symptômes de Brucellose ont, pour certains auteurs, fait une maladie atténuée, complètement latente ; pour d'autres ils ont été vaccinés par le contact répété avec le germe sans jamais avoir eu d'infection. Cependant pour HARRIS [74] la présence d'agglutinines chez des personnes apparemment en bonne santé peut présager d'une infection active sévère ou pouvant devenir sévère ultérieurement (ce qui s'explique si on admet que les agglutinines ne peuvent exister qu'en fonction de la présence de germes dans l'organisme).

Enfin, il faut rapporter l'apparition possible d'agglutinines chez des sujets sains, à séro-diagnostic négatif, chez lesquels on pratique une *intra-dermo-réaction* à la Mélitine. Déjà DUBOIS [54] - ROSSI et VIGEL [146] ont noté que l'intra-dermo-réaction active le pouvoir agglutinant des animaux témoins et réactive précocement celui des infectés. La date d'apparition de ces agglutinines (5e jour) et leur durée (2 mois) est précisée par ROSSI et SAUNIÉ [145]. Le même fait a ensuite été rapporté chez l'homme. Une statistique de CARPENTER [28] spécifie que seules les intra-dermo-réactions positives sont suivies de l'apparition d'agglutinines. Chez 193 sujets sains à séro-diagnostic négatif qui reçoivent une injection de Brucellergine et une injection de vaccin dilué on trouve 136 intra-dermo-réactions négatives et 57 positives. Un nouveau séro-diagnostic est fait 15 jours après, puis tous les mois. Les 136 sujets à intra-dermo-réaction négative n'ont jamais eu d'agglutini-

nes ; parmi les 57 sujets à intra-dermo-réaction positive; 17 ont eu des agglutinines à des taux allant de 1/20 à 1/1280 pendant 2 et même 6 mois. Donc chez 1/3 des sujets normaux sensibilisés aux Brucella, une intra-dermo-réaction déclanche la formation d'agglutinines à des taux assez élevés pour faire porter à tort le diagnostic de Brucellose à l'occasion d'une symptomatologie vague (ENJALBERT et MONNIER) [60]. Aussi, quand on veut pratiquer les différentes épreuves tendant à établir le diagnostic d'une Mélitococcie, il faut ne jamais faire l'intra-dermo-réaction avant le séro-diagnostic.

Pour résumer ces notions sur les agglutinines des malades et des contacts, voyons l'interprétation du séro-Wright en fonction de la clinique :

— une agglutination égale ou supérieure à 1/80, avec des signes cliniques, signifie une infection brucellique active, récente.

— une agglutination inférieure à 1/80 avec des signes cliniques peut se voir dans les Brucelloses au début (augmentation rapide du taux des agglutinines) et dans les Brucelloses sur le déclin (diminution du taux).

— une agglutination négative, avec des signes cliniques, n'exclut pas forcément le diagnostic de Brucellose.

— une agglutination quelquefois supérieure à 1/80, mais sans signe clinique peut se voir chez les vaccinés et les contacts, spontanément ou à l'occasion d'une réactivation par une intra-dermo-réaction.

g. - *Agglutinines chez les sujets sains ou porteurs d'affections non mélitococciques :*

D'après certains auteurs il existe des agglutinines anti-brucella, à des taux en général non significatifs, mais quelquefois aussi à des taux valables, chez des sujets sains n'ayant jamais eu de contact avec les Brucella, ou chez des malades présentant d'autres affections.

La question des agglutinines chez *les sujets sains* a été autrefois très à l'honneur. Pour NÈGRE [123] — NÈGRE et RAYNAUD [125], les sérums normaux peuvent agglutiner les Brucella à 1/30 ou 1/50 ; ce pouvoir agglutinant est supprimé par le chauffage du sérum à 56° pendant 1 heure. Depuis, certains auteurs ont été partisans du chauffage, d'autres non. A l'heure actuelle on admet généralement qu'il est inutile et qu'il n'y a pas d'agglutinines chez les sujets sains, sinon chez les sujets contact.

Reste le problème des agglutinines dans *d'autres affections*. On les a d'abord décrites dans de multiples maladies. C'est ainsi qu'ANGLADA [2], en examinant le sérum de 106 sujets, trouve 62 réactions positives à des taux égaux ou supérieurs à 1/80, dont 16 à 1/150 (4 typhoïdes, 2 syphilis, une pneumococcie), 12 à 1/200 et 1 à 1/300 (typhoïde). HAUPTMANN [75] aussi, rapporte des cas d'agglutination dans la typhoïde, l'otite chronique, l'appendicite, la pneumonie.

Petit à petit, à mesure que la technique du sérodiagnostic s'améliore, les affections autres que la Mélitococcie où l'on trouve des agglutinines anti-brucella diminuent. Cependant les co-agglutinations dans certaines maladies sont plus longtemps discutées. C'est ainsi

qu'elles existent dans la tuberculose pour SARNOWIEC, ce qui est combattu par COURMONT et BILLA [35] — RANQUE et SENEZ [141] — CARRÈRE et QUATREFAGES [29]. Au cours de la typhoïde, MEISEL [116] sur 687 sérums examinés, en trouve 5 qui agglutinent à la fois les Bacilles d'Eberth et de Bang. Ce fait est confirmé par RANQUE et SENEZ [141] — HARRIS [74], mais infirmé par CARRÈRE et QUATREFAGES [29]. Le Proteus aussi a été mis en cause par MEISEL [116] et DARZINE [43].

Actuellement, les co-agglutinations à l'ordre du jour sont celles qui existent avec les agents de la tularémie et du choléra.

Les premiers, FRANCIS et EVANS [62] montrent la possibilité d'agglutination croisée entre les Brucella et Bacterium Tularense. Sur 100 sérums de tularémiques examinés par eux, 63 n'agglutinent pas les Brucella, 37 les agglutinent à des taux variant de 1/20 à 1/1280. Dans 3 cas le titre est aussi élevé pour les Brucella que pour B. Tularense (diagnostic par l'épreuve d'absorption des agglutinines). Inversement sur 8 sérums de Brucellose, 3 agglutinent B. Tularense à 1/80 (1/2500 pour Abortus), 1/20 (1/1280 pour Mélitensis), et 1/10 (1/640 pour Abortus). Depuis, plusieurs auteurs retrouvent cette agglutination croisée entre les Brucella et les Pasteurella. Dans son rapport au Congrès d'Hygiène, V. de LAVERGNE [103] rappelle différentes statistiques concernant l'agglutination des Brucella par le sérum des Tularémiques. Les chiffres varient de 24,6% (DRBOHLAV) [52], 16 % (KAMIL et GOLEM), 14 % (MALGREN), 12 % (V. DE LAVERGNE) à 7% (OLIN). Le sérum des Mélitococciques provoque une co-agglutination beaucoup moins fréquente de B. Tularense (BURNET) [24]. Tout récem-

ment, GIRARD [68] discute les résultats de FRANCIS et EVANS. Il retrouve bien des agglutinines brucelliques dans les sérums tularémiques, mais avec une fréquence dix fois moindre que les auteurs précédents car il ne tient compte que des agglutinations à 1/100. Sur 154 sérums examinés, 5 seulement agglutinent les Brucella à ce taux. L'épreuve de saturation des agglutinines montre qu'il ne peut s'agir de l'association avec une fièvre de Malte. Inversement GIRARD met en évidence 6 fois des co-agglutinines tularémiques à des taux allant de 1/10 à 1/150 dans le sérum de 12 malades atteints de Brucellose, ces taux étant suffisants pour le diagnostic de tularémie. Il conclut à des communautés antigéniques entre les agents de la Tularémie et de la Brucellose.

Le problème des agglutinines anti-brucella chez les sujets vaccinés contre le choléra a été étudié par EISELE, Mac CULLOUGH, BEAL et ROTTSCHAFFER [59]. Pour eux, 56 % des vaccinés ont des réactions d'agglutination anti-brucella à des taux de 1/20 et plus (41 % à des taux égaux ou supérieurs à 1/40, 20 % à des taux égaux ou supérieurs à 1/80) ; 18 à 28 mois après la vaccination, 27 % des sujets ont encore des titres égaux ou supérieurs à 1/40. GALLUT [65] a retrouvé l'agglutination des Brucella par certains sérums anti-cholériques. Les taux anti-brucella ont été en général inférieurs aux taux anti-choléra, mais exceptionnellement ils ont pu les égaler. Quelquefois les sérums anti-brucella agglutinent les vibrions du choléra. Alors que ces co-agglutinations sont attribuées à l'antigène H du vibrion que l'on retrouverait dans les Brucella pour MAC CULLOUGH, EISELE et BEAL [40], pour GALLUT elles sont dues à une fraction de l'antigène cholérique O (facteur D. pour Brucella Mélitensis, facteur CD pour Abortus Bovis et Suis).

h. — *Valeur des méthodes rapides de Séro ou d'Hémo-Diagnostic :*

*Le Séro-diagnostic rapide* (HUDDLESON), simple à faire, toujours négatif quand le séro-diagnostic lent est négatif, est un peu trop sensible. Alors que pour GOULD et HUDDLESON [70], la réaction est positive à 1/25, en France il faut au moins un taux de 1/100 pour porter le diagnostic de Brucellose. Voici les résultats donnés par E. ENJALBERT et MONNIER [60] sur 188 réactions faites en parallèle : Quand le Séro-Wright était supérieur à 1/80, HUDDLESON était toujours positif. Quand le séro-Wright était inférieur à 1/40, HUDDLESON était toujours négatif. Enfin, dans 16 cas, le séro-Wright était compris entre 1/40 et 1/80 alors que la réaction d'HUDDLESON était positive à 1/100. Il faut donc toujours vérifier un HUDDLESON positif.

*L'Hémo-diagnostic rapide*, pour BRUMPT [20], est toujours négatif chez les témoins sains ou présentant une autre affection et toujours positif dans les cas de fièvre de Malte, mais sa sensibilité ne descend pas au-dessous de 1/100. G. GUY [73] en fait une méthode économique, simple car elle ne nécessite pas de prise de sang, permettant le diagnostic au lit du malade, mais ne donnant pas de résultats quantitatifs. Elle rapporte dans sa thèse les résultats des examens comparatifs de 762 sangs : 427 sont positifs, et 325 négatifs par les méthodes lentes et rapides. Il y a 10 discordances : 8 sangs négatifs à l'agglutination rapide donnent un séro-Wright positif à 1/10 et 1/20 ; 2 sangs d'endocardite à streptocoques viridans donnent une hémo-réaction positive et un séro-Wright positif à 1/10 et 1/40. E. ENJALBERT et MONNIER [60] trouvent des résultats compara-

bles à ceux de la réaction de Huddleson, mais observent quelques discordances chez les malades traités par les antibiotiques. Alors que le séro-diagnostic rapide reste positif, l'hémo-diagnostic devient négatif après le traitement. Cette discordance serait en faveur de l'opinion de CASTANEDA qui fait de la positivité de l'hémo-diagnostic une preuve d'infection active et de celle du séro-diagnostic une preuve d'immunité acquise.

*Le sérum ou le sang desséché* donnent d'après SIRK [159] des résultats analogues à ceux obtenus avec le sang frais dans les cas très positifs, mais il y aurait quelques discordances dans les cas douteux.

Pour DONHAM et FITCH [50] l'*antigène déshydraté* est plus sensible et plus précis que l'antigène ordinaire mais sa préparation est longue et coûteuse.

i. - *Agglutinines dans les autres liquides* :

En pratique, en dehors du sang, on ne recherche les agglutinines que dans le liquide céphalo-rachidien où leur titre ne dépasse guère 1/320 (E. ENJALBERT et MONNIER) [60]. Une réaction supérieure à 1/20 a une grande valeur. Elles sont indépendantes des agglutinines sanguines ce qui prouverait la formation indépendante des anticorps pour BINGEL et JACOBSTHAL.

### 2° La déviation du complément

La réaction de déviation du complément ou de fixation, très peu employée actuellement en France, utilise comme le Bordet-Wasserman une réaction d'hémolyse.

La date d'apparition des anticorps fixateurs dans le sang est variable selon les auteurs. Pour certains ils sont plus précoces que les agglutinines ; ainsi Lauda [102] cite le cas d'un malade chez lequel au 13e jour, le séro-diagnostic est négatif alors que la réaction de fixation est positive, l'hémoculture ne devenant d'ailleurs positive qu'au 19e jour ; pour d'autres, ils se développent en même temps (Sasano, Caldwell et Medlar) [151] ; par contre d'après Jersild [92] et Dalrymple-Champneys [41] ils sont d'apparition plus tardive.

Si l'on compare sensibilisatrices et agglutinines on obtient des résultats concordants (Zeissig et Mansfield) [182]. Pour Supfle et Hofmann [166] Janbon [88], la déviation du complément est même supérieure en sensibilité, mais sa manipulation est délicate.

Les sensibilisatrices persistent plus longtemps que les agglutinines, des mois et des années après la guérison (Sasano, Caldwell et Medlar [151] — Bergmark [10] — Jersild [92]). Ainsi le diagnostic de fièvre ondulante actuelle ne peut être fait au moyen de la réaction de fixation.

Enfin, comme dans la pratique du séro-diagnostic, il est des cas positifs chez des sujets-contact n'ayant jamais eu de signes cliniques de Mélitococcie. Ainsi, sur 90 personnes saines travaillant dans une laiterie, Lerche et Lentze [109] trouvent 20 sujets (22 %) possédant des sensibilisatrices.

### 3° La réaction de floculation ou de précipitation

Jullien et Laurent [93] ont adapté aux Brucella la technique de floculation des sérums de Dujarric de la Rivière, Roux et Kossovitch. On mélange 5 parties d'antigène (filtrat d'une émulsion de Brucella dans l'alcool absolu) et une partie de teinture de benjoin. Dans un tube à hémolyse on met 5 cc. d'eau physiologique et 1/10 de centimètre cube du mélange antigène-benjoin. Après agitation, on ajoute 1 cc. de sérum chauffé à 37°. La floculation se produit au bout de 8 à 10 heures d'étuve. Elle peut être à grains fins, à gros grains ou totale. Les avantages de cette méthode sont la standardisation facile et la stabilité de l'antigène, ainsi que la rapidité de la réponse.

La date d'apparition des anticorps précipitants serait plus précoce que celle des agglutinines pour Grimaldi et Sanna [72].

Quant à la valeur de la réaction, elle est discutée. Pour Jullien et Laurent [93] sur 111 sérums étudiés, seuls floculent les 39 échantillons de fièvre de Malte. Eickmann et Eschbaum [58] rapportent des résultats analogues à ceux de l'agglutination et de la déviation du complément. Par contre la méthode est jugée insuffisante par Kollar [96] (15 floculations négatives sur 28 sérums positifs à l'agglutination) — Vigano — Frosini [63] — Massida [115]. Voyons plus en détail les résultats rapportés par Grimaldi et Sanna [72] : sur 132 sérums à agglutination égale ou supérieure à 1/500, 103 (78 %) ont précipité et 29 (22 %), n'ont pas précipité. Sur 153 sérums à agglutination négative, 60 (39 %)

donnent des résultats positifs à la précipitation et 93 (61 %) des résultats négatifs. Cependant les auteurs concluent à de bons résultats spécifiques. Ils rattachent à une affection inapparente ou à une vaccination orale les cas où la précipitation est positive alors que l'agglutination est négative. Mais ils ne donnent aucune explication au fait que sur 132 sérums à agglutination positive, il y ait 22 % de réactions de précipitation négatives.

4° La recherche du pouvoir bactéricide du sérum

Alors que le sérum d'un sujet sain inhibe la pousse des Brucella, on observe chez le Mélitococcique une chute de ce pouvoir bactéricide.

Voici la technique de la recherche (Manguso) [114]: on mélange 1 cc. de sérum à 0,10 cc. d'une suspension de Brucella. 0,10 cc. du mélange sont mis à l'étuve et, après 24 heures, ensemencés dans un tube de gélose. La lecture des résultats se fait après 24 à 48 heures.

Cette réaction délicate à pratiquer, difficile à interpréter ne suffit jamais seule au diagnostic.

### 5° L'index opsono-cytophagique

Au cours des Brucelloses, la formule sanguine qui montre une leucopénie prononcée avec mononucléose, peut être intéressante par l'étude de l'index opsono-cytophagique. En effet la teneur du sérum d'un mélitococcique en opsonines spécifiques favorise la phagocytose des brucella (Huddleson, Johnson et Hamann) [87]. Celle-ci se recherche de la façon suivante : à 0,1 cc. de sang citraté, on ajoute 0,1 cc. d'une émulsion de brucelles vivantes ; après 30 minutes à 37° on étale sur lame et colore une goutte de ce mélange. L'examen de 25 polynucléaires permet de déterminer l'indice opsonique. D'après le nombre de germes qui y sont inclus, on classe le pouvoir opsonique en : nul, si la phagocytose est nulle — léger, si le polynucléaire contient de 1 à 20 brucella — moyen, s'il renferme 21 à 40 germes — marqué au dessus. L'indice opsonique traduirait l'état d'immunité vis-à-vis des Brucella. Un sujet dont moins de 40 % des polynucléaires présentent une phagocytose marquée est considéré comme infecté ; de 40 à 60 % il est infecté avec une immunité douteuse ; au-dessus de 60 % il est immunisé (Gould et Huddleson) [70].

Harris [74] insiste sur les erreurs les plus communément faites, telles que l'utilisation tardive du sang, l'emploi de citrate à trop forte concentration ou de brucella non virulentes, et le manque de soins méticuleux dans l'exécution. Cependant, pour lui et pour Mac Cullough [38] ce test a une grande valeur quand on le considère comme faisant partie d'une série d'épreuves. Par contre, en Angleterre et en France, l'index opsono-cytophagique est jugé comme nécessitant une technique beaucoup trop laborieuse pour une valeur bien limitée.

### 6° Les antigènes des Brucella

Au terme de cette étude des différentes réactions d'immunité qui permettent de faire le diagnostic d'une Mélitococcie, il serait intéressant de préciser la partie antigénique des germes et la possibilité de distinction sérologique des trois variétés, mais les résultats des différents travaux publiés sont bien loin d'être concordants.

C'est ainsi que Wilson et Miles trouvent deux antigènes dans les Brucella, l'un abondant dans les souches bovines et porcines et faible dans les souches humaines, l'autre inversement, plus abondant dans les souches humaines.

Pour Olitzki et Gurevitch, il existe un antigène G commun aux 2 types, un antigène M spécial à Br. Mélitensis et un antigène A spécial à Br. Abortus.

D'après Léna Sievert [157], Br. Mélitensis est privé d'un agglutinogène présent dans les 2 autres souches de Br. Abortus.

En dissociant les différentes fractions chimiques des Brucella, certains auteurs ont attribué le pouvoir antigénique à la portion protidique et d'autres aux glucidolipides.

Topping [177] s'est intéressé à la fois aux hydrates de carbone et aux nucléo-protides et a trouvé des propriétés antigéniques identiques pour les 2 fractions chimiques. Celles-ci manifestent dans les réactions sérologiques un caractère spécifique du groupe et aucun caractère spécifique de l'espèce.

C'est la portion protidique seule qui a retenu l'at-

tention de HUDDLESON, HEISHEY et HUSTON [86] — OTERO et GONZALÈS [128] — PENNEL et HUDDLESON [132], pour lesquels la réaction de précipitation croisée peut être utilisée pour différencier les trois endo-antigènes et par suite pour identifier un germe.

Par contre la fraction glucido-lipidique seule est considérée comme antigénique pour d'autres auteurs. LISBONNE et MONNIER [113], en utilisant la méthode générale de BOIVIN pour extraire des bactéries un complexe lipo-glucidique appelé antigène complet, ont isolé cette substance des Brucella. Pour DAVOLI [44], cet antigène complet est commun aux différentes souches de Brucella. R. DE BLASI [14] essaie, lui aussi, de différencier les 3 types de Brucella en étudiant leur fraction glucido-lipidique par les méthodes de précipitation, de déviation du complément, d'absorption des agglutinines et d'inhibition de l'agglutination. Il ne lui a pas été possible de faire de distinction entre les 3 germes. Il discute l'existence dans les Brucella d'un antigène protidique et note que, dans la composition des complexes glucido-lipidiques, entrent vraisemblablement en jeu aussi des fractions protéiques.

## *CHAPITRE III*

# L'APPARITION DES REACTIONS D'ALLERGIE

L'infection expérimentale du cobaye par les Brucella provoquant une maladie chronique, l'idée d'une analogie avec l'infection tuberculeuse a engagé BURNET à rechercher les phénomènes qui accompagnent une réinfection. Comme la tuberculose, la Mélitococcie crée un état allergique spécifique qui se traduit par une réaction particulière de la peau ou de tout l'organisme après l'introduction d'une minime quantité de corps microbiens ou de substances sécrétées par les Brucella.

Nous nous proposons d'étudier successivement :
— les antigènes employés
— leurs différentes voies d'introduction,
— et enfin, les résultats obtenus (date d'apparition de l'allergie, fidélité, durée, spécificité).

### 1° LES ANTIGÈNES EMPLOYÉS

Dans la recherche de l'allergie, on peut utiliser soit les filtrats de culture de Brucella, soit les germes eux-mêmes ou leurs extraits.

Parmi *les filtrats*, l'antigène le plus anciennement proposé et de beaucoup le plus utilisé, du moins en France, est la Mélitine de BURNET [25], filtrat stérile d'une culture de Mélitensis en bouillon peptoné âgée

de un mois. Toutes les souches ne se prêtant pas également à cette préparation, il faut un contrôle de la propriété réactogène. Par ailleurs, on n'utilise que les préparations de moins de deux mois, la mélitine perdant rapidement son activité (LISBONNE) [111].

Tout à fait analogue est l'Abortine, filtrat de culture d'Abortus Suis.

Proche aussi est la Brucelline Mirri. Une culture de Mélitensis et d'Abortus en bouillon glucosé est additionnée au 30e jour de sérum agglutinant, en quantité suffisante pour obtenir la clarification du milieu, et de formaline. Le liquide décanté constitue la Brucelline.

DUBOIS et SOLLIER [55] remplacent, dans la préparation de la mélitine, le bouillon peptoné par du placenta humain pour éviter les pseudo-réactions dues aux albumines hétérogènes.

Enfin, on peut utiliser les *corps microbiens* eux-mêmes tués par la chaleur ou le formol (pour LEON et SOSA [107] il faut une suspension de 1.000.000 de germes formolés par centimètre cube pour détecter l'allergie), ou leurs extraits. C'est la fraction nucléo-protéique des 3 Brucella (émulsion à 1/2000 dans du sérum physiologique) qui est employée en Amérique sous le nom de Brucellergine (GOULD et HUDDLESON) [70]. Alors que pour MAC CULLOUGH [38] c'est un bon antigène, elle est sujette à caution pour HARRIS [74].

### 2° LES VOIES D'INTRODUCTION

Le plus souvent la réaction d'allergie se recherche en introduisant l'antigène dans le derme. Mais à côté de cette technique, connue depuis longtemps et largement

employée, il faut faire une place aux réactions à traduction générale, comme celle réalisée par l'injection intra-veineuse de vaccin.

*Introduction de l'antigène au niveau de la peau ou des muqueuses*

*L'intradermo-réaction de* BURNET se pratique en injectant dans le derme 0 cc. 1 de mélitine ou de tout autre antigène mélitococcique, au niveau de la région antérieure de l'avant-bras. Du côté opposé une injection de bouillon ordinaire stérile sert de témoin. Si la réponse est positive, on voit apparaître 8 à 12 heures après la piqûre, une plaque rouge de 2 à 6 cm. de diamètre, douloureuse à la pression, faisant saillie en verre de montre sur les téguments voisins. Sur l'avant-bras opposé on note quelquefois un peu de rougeur transitoire, d'apparition plus précoce et d'évolution plus rapide, liée aux protéines du bouillon. Le signe distinctif majeur est le manque d'œdème. Alors que pour HARRIS [74] de faibles réactions doivent être considérées comme positives, MAC CULLOUGH [38] demande une induration et un œdème de 0,5 cm. de diamètre au moins, pour affirmer la positivité de l'intra-dermo-réaction.

Dans quelques cas, l'injection d'antigène s'accompagne d'une réaction générale consistant en frissons, température, courbature.

*L'hypodermo-réaction* peut être pratiquée à la place de l'injection intra-dermique. BURNET, en injectant sous la peau 0,5 cc à 1 cc de mélitine, obtient une forte réaction locale ou générale.

La *percuti-réaction* est également proposée. DIEHL et

ROTH [48] frictionnent pendant 2 minutes la peau du dos ou de l'avant-bras avec une pommade composée de bacilles de Bang, d'eucérine, d'acide salicylique et de verre pulvérisé. Chez les sujets infectés, après 36 à 48 heures, ils observent des papules orange, de la grosseur d'une tête d'épingle, qui se transforment parfois en vésicules.

C'est une technique analogue qu'emploie MERIEUX. Après friction de la région sternale pendant 30 secondes avec une culture de Brucella en bouillon glycériné, formolé, on voit apparaître une éruption dans les 3 ou 4 jours si la réaction est positive.

Enfin, comme pour la tuberculine, on peut introduire l'antigène au niveau d'une muqueuse, en particulier de la conjonctive (*ophtalmo-réaction*).

*Introduction de l'antigène par voie intra-veineuse*

BIANCHI et CATTANÉO [12] indiquent que l'injection de petites quantités de vaccin intra-veineux produit des réactions fébriles chez les malades dont le sérum agglutine Br. Mélitensis. Par contre les individus sains ne réagissent pas à ces faibles doses. Ces constatations sont confirmées par DURAND [57] — PYRGIALIS [139] — JANBON. Dans sa thèse, PEYRE [133] précise les modalités de la réaction : alors que chez les sujets normaux ou les malades divers, l'injection intra-veineuse de 1/10 cc. de vaccin anti-mélitensique ne produit pas d'effet, chez tout Mélitococcique, même présentant une température élevée avant l'injection, on constate une ascension ther-

mique, débutant 2 ou 3 heures après l'injection, atteignant son maximum 5 à 6 heures après, et s'accompagnant d'un état de choc (abattement, frissons, sueurs).

### 3° L'interprétation des résultats

A) *Date d'apparition de la positivité de l'intra-dermo-réaction :*

C'est dès le 8e jour de la maladie que l'intra-dermo-réaction est positive pour Burnet [23], le 10e jour pour Rossi et Vigel [146]. Mais d'après Leon et Sosa [107] il faut attendre un mois pour que l'allergie cutanée apparaisse.

B) *Brucelloses sans intra-dermo-réaction positive :*

Burnet [26] et Appieto [4] éliminent avec certitude une Brucellose devant le résultat négatif d'une intra-dermo-réaction. Mais les cas de fièvre de Malte avérée où la réaction est négative, s'ils sont exceptionnels (Bastai et Rotta [9] — Olmer [127] — Gould et Huddleson [70] — Lisbonne [111]) existent cependant. J. Tapie, G. Andrieu, Darnaud, Gourdou et Garric [167] rapportent l'observation d'un malade ayant une fièvre ondulante à Br. Mélitensis, vérifiée par hémoculture et séro-diagnostic, et où l'intra-dermo-réaction, renouvelée plusieurs fois avec des antigènes différents, est toujours négative.

Leon et Sosa [107] insistent sur la nécessité d'un antigène bien dosé pour obtenir une réponse positive. Dans les Mélitococcies confirmées, ils pratiquent l'intra-dermo-réaction en utilisant une suspension de germes

tués par le formol, à des concentrations respectives de 10.000, 100.000 et 1.000.000 germes par centimètre cube (injection de 1/10 cc.) ; alors qu'avec la première concentration ils n'obtiennent que 41,6 % de réponses positives, ils en trouvent 88,8 % avec la deuxième et 100 % avec la troisième.

C) *Rapports avec l'Hémoculture et le Séro-diagnostic :*

L'intra-dermo-réaction est indépendante des autres épreuves. Au début elle est négative alors qu'hémoculture et séro-diagnostic peuvent être positifs. Exceptionnellement elle est négative au cours de toute l'évolution d'une Brucellose confirmée. Cependant Olmer [127] dit n'avoir jamais vu de cas où l'agglutination était positive alors que l'intra-dermo-réaction était négative. Souvent enfin elle est positive quand l'hémoculture et le séro-diagnostic sont ou sont devenus négatifs.

Nous avons déjà noté, en étudiant le séro-diagnostic, l'apparition possible d'agglutinines sanguines après injection intradermique d'antigène.

D) *Durée de la positivité de l'intra-dermo-réaction :*

Cette question est assez mal éclaircie car on ne peut suivre le malade assez longtemps après la guérison. Souvent on signale la persistance d'une intra-dermo-réaction positive après un certain nombre d'années, mais personne n'exprime nettement au bout de combien de temps l'intra-dermo-réaction devient négative ni même si elle disparaît.

Pour Burnet, les malades guéris ont une intra-dermo-réaction positive pendant 2, 3 ans et plus ; pour

Appieto [4] pendant 5 ans; c'est aussi l'opinion de Leon et Sosa [107] qui trouvent même que la réaction augmente en intensité jusque-là. Lemierre, Reilly, Franchel [106] rapportent un cas d'intra-dermo-réaction positive 10 ans après la guérison. Lisbonne et Rimbaud, sans donner de date précise pensent que la réaction persiste de nombreuses années après la guérison clinique. Pour Coventry [36] elle dure indéfiniment. Notons cependant qu'Olmer [127] rapporte une observation où l'intra-dermo-réaction s'est montrée négative chez un malade guéri depuis 17 mois. Il cite cette phrase de Burnet : « En matière de fièvre méditarranéenne, la réaction cesse d'exister un certain temps après la fin de la maladie, sans doute lorsque l'infection elle-même a cessé d'exister ».

Il en résulte que l'intra-dermo-réaction ne peut servir au diagnostic de fièvre de Malte actuelle. Si sa négativité permet d'exclure à peu près certainement une mélitococcie, le fait qu'elle soit positive peut traduire simplement une infection passée et ne signifie pas du tout qu'une maladie en cours soit une Brucellose (Jersild [92] — Spink [160] — Coventry [36] — Lisbonne [111]).

On ne peut se baser sur l'intensité de la réponse, car il n'y a aucune corrélation entre l'importance des phénomènes allergiques et la probabilité d'une infection active (Gould et Huddleson [70] — Mac Cullough [38]). Cependant pour Gould et Huddleson, chez un sujet ayant une intra-dermo-réaction positive il est facile de distinguer l'infection actuelle de l'immunité acquise par le test opsono-cytophagique.

E) *Spécificité de l'intra-dermo-réaction :*

Si, pour BURNET et APPIETO, la réaction est toujours négative en dehors de la fièvre de Malte, on a signalé sa positivité chez des sujets sains ou ayant une autre affection.

C'est ainsi que BASTAI et ROTTA [9] rapportent 9 cas d'intra-dermo-réactions positives sur 72 sujets sains ou ayant une affection tout autre que la Brucellose. OLMER [127] en signale un sur 50 malades. DUBOIS et SOLLIER [56] en trouvent 2 sur 10 sujets ayant des maladies diverses et 11 chez 63 sujets sains sans antécédent (vétérinaires, bergers). Il existe de nombreuses autres observations signalant ce fait, nous ne saurions les citer toutes.

Cependant on admet que l'intra-dermo-réaction est spécifique. Et l'on explique sa positivité soit par une maladie atténuée ou complètement latente, actuelle ou passée, soit par un contact avec des germes, le plus souvent absorbés avec le lait, qui déterminent une vaccination sans provoquer la maladie (LISBONNE) [111].

Une question importante est de savoir si l'introduction dans l'organisme, de germes tués peut provoquer l'apparition de phénomènes d'allergie.

C'est l'avis de BASTAI et ROTTA [9] qui montrent expérimentalement que la vaccination par voie sous-cutanée et surtout digestive avec des Brucella tuées entraîne, à vrai dire tout à fait exceptionnellement, la positivité de l'intra-dermo-réaction.

Par contre, pour ROSSI et SAUNIÉ [145] — SAUNIÉ [152] — ROSSI et VIGEL [146] — MIRRI [122], la positi-

vité de l'intradermo-réaction est un signe d'infection. Elle ne se produit pas à la suite de la simple inoculation à l'animal d'une culture tuée. Alors que BRAUDE, GOLD et ANDERSON [19] d'une part, Mac CULLOUGH, EISELE et BEAL [39] d'autre part, ne sont pas d'accord sur l'apparition d'agglutinines chez l'homme après ingestion de Brucella mortes, tous ces auteurs signalent que cette ingestion ne provoque pas l'apparition de phénomènes d'allergie.

Il semble bien que seuls les germes vivants puissent déterminer la positivité de l'intra-dermo-réaction et que celle-ci ne persiste qu'en fonction de la persistance même des germes dans l'organisme.

Signalons, avant de terminer ce chapitre, que KYGER et HADEN [100], frappés par l'importance des signes nerveux dans les Brucelloses ont étudié systématiquement l'intra-dermo-réaction au cours de 118 cas de sclérose en plaques. Ils trouvent un grand nombre de réponses positives et concluent à l'existence possible de rapports entre ces deux affections.

F) *Diagnostic du germe en cause par l'intra-dermo-réaction :*

Alors que, depuis BURNET, tous les auteurs pensent que l'allergie cutanée ne permet pas de différencier Br. Mélitensis et Br. Abortus, pour LEON et SOSA [107] le diagnostic de la variété de Brucella en cause est possible dans un certain nombre de cas. Il suffit d'injecter en même temps, en deux points différents, abortine et mélitine à la même concentration et l'on constate que la réaction est plus accusée avec l'antigène homologue.

G) *Valeur de l'injection intra-veineuse de vaccin :*

Cette réaction, très fidèle (pour PYRGIALIS [139], 200 réponses positives sur 200 fièvres de Malte, pour PEYRE [133] 80 cas positifs sur 80), serait immédiate, jamais douteuse, à la portée du médecin isolé, plus sensible même que l'intra-dermo-réaction. Cependant elle comporte quelques contre-indications (tuberculose pulmonaire).

De plus il peut y avoir des réponses positives chez des sujets qui n'ont jamais eu de signes cliniques de Brucellose. Une étude de BOULET, SERRE, PASSOUANT, VALLET et MIROUZE [17] rapporte que 41 % des personnes en pays d'endémie réagissent à l'injection intra-veineuse de vaccin. Par conséquent ce test d'allergie n'a aucune valeur pour le diagnostic d'une Mélitococcie actuelle, moins même que l'intra-dermo-réaction, puisqu'il serait plus sensible qu'elle.

## *CHAPITRE IV*

# LA VALEUR DES METHODES DE LABORATOIRE EN FONCTION DE L'EVOLUTION DE LA MALADIE

Pour comprendre l'évolution des Brucelloses, il nous semble utile de rappeler *le comportement du germe dans l'organisme.*

Celui-ci passe dans la circulation qui le distribue à divers territoires : ganglions, rate, foie, moëlle osseuse, poumons, reins, chaque auteur mettant l'accent sur une localisation particulière. Il demeure dans ces « gîtes » quand il disparaît du sang et il peut passer de nouveau dans le sang par poussées (BURNET) [23].

La chronicité de la maladie trouve une explication dans la tendance des germes à croître à l'intérieur des cellules, ce qui les préserve contre les défenses cellulaires et humorales et les agents thérapeutiques (BUDDINGH et WOMACK [22] — CASTANEDA [32]). Les Brucella s'accumulent dans les histiocytes et les macrophages et dans les cellules endothéliales des capillaires. Leur dissémination se fait par les histiocytes mobiles. La symptomatologie ondulante de la Mélitococcie aurait pour cause des décharges microbiennes périodiques. Cependant, pour E. ENJALBERT et MONNIER [60] on constate trop

souvent l'absence de germes dans le sang pour accepter cette notion de brucellose : septicémie intermittente.

L'hypersensibilité des tissus aux antigènes des Brucella est un trait constant de la Mélitococcie et les symptômes complexes de la maladie peuvent dépendre en partie de ce fait (SPINK [161].

Comme la tuberculose et la syphilis, la Brucellose entre, pour certains, dans le cadre des maladies à prémunition (CASTANEDA) [33] — (SERGENT) [154], affections dans lesquelles le microbe continue à se multiplier en dépit d'un degré considérable d'immunité développé chez l'hôte. Cependant les Brucella ne sont pas entièrement résistantes aux défenses cellulaires et humorales et d'après BURNET l'infection finit par cesser.

Ayant ainsi rappelé la tendance à la chronicité des Brucelloses, essayons maintenant de voir sur quelles bases pourra s'appuyer le *diagnostic dans chaque forme et à chaque phase* de la maladie. Nous n'envisagerons que la recherche du germe, le séro-diagnostic et l'intra-dermo-réaction qui seuls sont employés en pratique, du moins en France.

Il est difficile de schématiser le tableau de la fièvre de Malte et c'est arbitrairement que nous étudierons successivement : les formes à début aigu, les formes viscérales sans début aigu et les formes chroniques d'emblée.

Les *formes à début aigu* étaient autrefois les plus classiques. Leur diagnostic est facile à faire, quelquefois par l'hémoculture, le plus souvent par le séro-diagnostic qui est à peu près toujours positif vers le dixième jour de la maladie, alors que l'intra-dermo-réaction ne donne

pas encore de réponse. La mort étant exceptionnelle, l'évolution se fait vers la guérison qui en général succède à plusieurs mois de température continue ou non, avec ou sans localisation viscérale. Sur 743 Brucelloses, DALRYMPLE-CHAMPNEYS [41] note une durée de moins de un mois dans 204 cas (27,5 %), de 1 à 3 mois dans 366 cas (50 %), et de plus de 6 mois à moins de 3 ans dans 48 cas (6,5 %). La guérison clinique ne s'accompagne pas immédiatement de guérison biologique, les germes persistant plus ou moins longtemps dans l'organisme. Le seul test de guérison biologique paraît être la négativation de l'intra-dermo-réaction qui succède à la disparition des agglutinines. Tant que l'intra-dermo-réaction reste positive le sujet doit être considéré comme un infecté. Une double erreur est alors possible :

D'une part on peut rattacher à tort à la fièvre de Malte une affection tout autre survenant quelques mois ou quelques années après. Le diagnostic est rendu difficile par la persistance des réactions d'allergie et des agglutinines sanguines qui pourraient même être réactivées à cette occasion. Or nous ne possédons pas de sérodiagnostic qualitatif comme pour la typhoïde, qui permettrait de distinguer les agglutinines actuelles et les agglutinines résiduelles.

D'autre part et surtout, on affirme souvent à tort la guérison d'une Brucellose alors qu'il persiste des germes dans l'organisme. Si ceux-ci peuvent rester toujours en sommeil, ils peuvent aussi donner une nouvelle poussée, quelquefois plusieurs années après la première. DALRYMPLE-CHAMPNEYS, sur les 743 cas déjà cités, en rapporte 7 ayant duré de 4 à 46 ans (durée totale comptant tous les intervalles apyrétiques suivis de réinfec-

tions). Parmi ces 7 cas, nous relevons une observation de FOSHAY qui, par une intra-dermo-réaction, réactive une maladie en sommeil depuis 6 ans, et une autre de DEBONO particulièrement intéressante : un colonel ayant eu 35 ans auparavant une fièvre de Malte, se fracture le col du fémur. Dans la convalescence apparaît une température inexpliquée par l'état local. Le malade signalant qu'il éprouve les mêmes symptômes qu'au cours de sa Mélitococcie, on pratique alors un séro-diagnostic qui est négatif et une hémoculture qui montre Br. Mélitensis. Il semble bien que les Brucella, en sommeil dans la moëlle osseuse se soient extériorisées à l'occasion de cette fracture.

Ici se pose la question des rechutes et des récidives des Brucelloses, question le plus souvent impossible à trancher. De plus en plus on pense que les récidives sont exceptionnelles et qu'il s'agit presque toujours de rechutes (LEDOUX [104] - GADRAT [64] - KLINKNER [95]). On ne pourrait être affirmatif que si les différentes épreuves biochimiques montraient qu'il ne s'agit pas chaque fois du même germe. Malheureusement, les observations manquent de précision du point de vue laboratoire, au moins pour la première maladie ; par ailleurs souvent le séro-diagnostic seul est positif et il ne permet pas le diagnostic de la variété de Brucella.

RENZI et GADUCCI, puis BASSI et MENCI [7] pensent avoir trouvé, par une réaction parallergique, le moyen de diagnostiquer rapidement la guérison clinique définitive de la fièvre de Malte. D'après eux, après injection intra-musculaire de 3 $cm^3$ de caséinate de calcium, en période apyrétique, on a une élévation thermique d'au moins 1° si la guérison n'est pas obtenue ; l'apy-

rexie ou une élévation thermique inférieure à 0°5 se voit si la brucellose est terminée cliniquement. Cette opinion ne paraît pas être confirmée par ailleurs.

Dans les *cas de localisations viscérales d'emblée*, sans épisode aigu initial, actuellement de plus en plus fréquentes, le diagnostic reste relativement aisé. Si l'hémoculture est souvent négative, on retrouve assez fréquemment le germe dans le pus, le liquide céphalo-rachidien, la moëlle osseuse, etc... Le diagnostic reste basé essentiellement sur le séro-diagnostic qui se fait avant tout dans le sang, mais aussi dans d'autres liquides (L.C.R.). Enfin il peut être aidé par la réponse positive de l'intra-dermo-réaction.

Beaucoup plus difficile est le problème des *brucelloses chroniques d'emblée*. Certains sujets n'ont jamais eu de manifestations cliniques faisant penser à une fièvre de Malte. Pourtant, à l'occasion d'une symptomatologie vague et complexe, on pratique chez eux systématiquement différents examens et l'on trouve des agglutinines sanguines ou une intra-dermo-réaction positive. Est-ce que cela suffit pour porter le diagnostic de Brucellose ?

La positivité du séro-diagnostic peut relever d'une co-agglutination, non avec le choléra qui ne se voit pas en France, mais peut être avec la tularémie qui y fait actuellement son apparition. Par ailleurs la simple injection d'antigène peut donner des agglutinines sanguines ; aussi HARRIS [74] estime que l'on fait une faute impardonnable en débutant par cette réaction qui voile ou détruit les résultats des autres moyens de laboratoire.

Enfin ces agglutinines peuvent être liées à un simple contact de l'organisme avec le germe.

Quant à l'intra-dermo-réaction, elle ne suffit nullement à affirmer le diagnostic de brucellose. Si, pour CARPENTER [27], elle est beaucoup plus spécifique que l'agglutination, elle ne permet cependant pas de différencier l'infection active de l'immunité ; elle n'a pas plus de valeur que l'intra-dermo-réaction à la tuberculine, et pourtant c'est le procédé de diagnostic des brucelloses dont on abuse le plus (SPINK) [160].

C'est dans ces cas douteux que la recherche des germes dans tous les points de l'organisme prend une valeur capitale. L'hémoculture est en général négative, aussi faut-il répéter les examens des urines, de la bile, des selles ; les ponctions de la rate, du foie, des ganglions, de la moëlle osseuse, donnent des résultats intéressants, mais malheureusement elles sont difficilement praticables.

## CONCLUSIONS

Parmi les différentes épreuves employées dans le diagnostic biologique des Brucelloses :

— l'hémoculture donne des résultats qui ne prêtent pas à discussion, mais elle est souvent négative, surtout dans les cas anciens ou atténués.

— le séro-diagnostic reste l'examen le plus pratique et le plus fidèle dans l'infection mélitococcique active.

— l'intra-dermo-réaction est un procédé très sensible, mais qui décèle non seulement une maladie actuelle, mais aussi une infection passée ou latente.

— d'où l'intérêt, dans certains cas, de la culture des tissus pouvant être considérés comme des gîtes microbiens, intérêt d'ailleurs plus doctrinal que réellement pratique.

Vu : *Le Doyen,*
*Pour le Doyen, l'Assesseur,*
BRUSTIER.

Vu : *Le Président de la Thèse,*
G. ANDRIEU

Vu et permis d'imprimer :
Toulouse, le 18 juin 1951
*Le Recteur,*
*Président du Conseil de l'Université.*
DOTTIN

# BIBLIOGRAPHIE


1. Alessandrini (A.) et Pacelli (M.). — Un pericolo sociale. Le Brucellosi. 1932. Imp. Annali Igiene, Rome.

2. Anglada (J.). — Recherches sur la séro-réaction de Wright. *C. R. Soc. Biol.*, 1912, 378.

3. Antonini et Coulon. — Présence de Br. Mélitensis dans le liquide d'épanchement d'une Hydarthrose du genou. *Bull. Soc. Path. Ex.* 1933, *26*, 566.

4. Appieto (M.). — Diagnostic de la fièvre méditerranéenne par l'intra-dermo-réaction de Burnet. *Thèse Montpellier*, 1924.

5. Baker (B. M.). — Intermittent hydarthrosis as a complication of Malta Fever. *Tr. A. Am. Phys.*, 1928, *43*, 285-287.

6. Basset (J.). — Brucellose et agglutination rapide. *Presse Médicale*, 1948, 24 avril, 303.

7. Bassi (M.) et Menci (S.). — Contributo alla diagnosi di guarigione clinica delle brucellosi mediante una reazione parallergica. *Atti Ac. Fiosiocr. Siena. Sez. Med.*, 1948, *16*, 29.

8. Bastai (P.) et Cerruti (C.). — Sulla epidemiologia della febbre maltese : Bac. di Bruce o bac. di Bang ? *Minerva Medica*, 1925, *5*.

9. Bastai (P.) et Rotta (C.). — Sul significato clinico e biologico delle reazioni allergiche e delle agglutinazioni antimelitensi. *Policlinico*, 1928, *35*.

10. Bergmark (G.). — Le pronostic dans la fièvre ondulante de Bang. *Acta Med. Scand.*, 1936, *78*, 336.

11. Bianchi (L.). — Sopra un dispositivo per l'applicazione della siero-diagnosi nella pratica. *Boll. della Soc. Med Chirurg. Pavia*, 1933, 683.

12. Bianchi (L.) et Cattaneo (L.). — Ancora sulla vaccinoterapia per via endovenosa nella febbre ondulante. *Boll. della Soc. Med. Chirurg. Pavia*, 1933, 207.

13. Bingel (A.) et Jacobsthal (E.). — Ueber Meningitis bei Banginfektion. *Klin. Woch.*, 1933, *12*, 1.093.

14. Blasi (R. de). — Studio sierologico dell'antigene completo dei tre tipi di Brucelle. *Giorn. Batt. Imm.* 1946 *34*, 269-276.

15. Blasi (R. de) et Scotti (G.). — Sulla diagnostica batteriologica delle Brucellose. *Giorn. Batt. Imm.* 1948, *39*, 127.

16. Blasi (R. de) et Scotti (G.). — Diagnostica della Brucellosi. *Giorn. Batt. Imm.*, 1948, *36*, 261.

17. Boulet (P.), Serre (H.), Passouant (P.), Vallat (G.) et Mirouze (J.). — Etude statistique de l'exploration systématique de l'allergie mélitococcique. *Montpellier Méd.*, 1949, *36*, 213.

18. Braude (A. I.) et Gold (D.). — Antibody formation in human subjects following the ingestion of heat-killed brucella abortus. *J. Lab. a Clin. Med.*, 1948, *33*, 1.459.

19. Braude (A. I.), Gold (D.) et Anderson (D.). — Formation of antibodies in human subjects after the ingestion of heat-killed br. abortus. *J. Lab. a Clin. Med.*, 1949, *34*, 744.

20. Brumpt (L.). — Nouvelle méthode d'hémo-agglutination permettant le diagnostic rapide des brucelloses. *Méd. Hôp.* 1940, 26 avril, 253-255.

21. Bruschettini (G.). — Sur la différenciation entre Br. Mélitensis et Br. Abortus au moyen d'un milieu au lait-œuf. *Boll. Sez. Ital. Soc. Inter. Micr.*, 1934, *6*, 35.

22. Buddingh (G.) et Womack (F.). — Observations on the infection of chick embryos with B. Tularense, Brucella and P. Pestis. *J. Exp. Med.* 1941, *74*, 213.

23. Burnet (E.). — Aperçu des acquisitions récentes sur la fièvre méditerranéenne. *Bull. Inst. Pasteur*, 1925, *23*, 369-382 et 417-432.

24. Burnet (E.). — *Arch. Inst. Pasteur, Tunis*, 1927, *16*. 90.

25. Burnet (E.). — Sur un nouveau procédé de diagnostic de la fièvre méditerranéenne. *C. R. Ac. Sciences*, 1922, *174*, 421-423.

26. Burnet (E.). — Recherches sur la fièvre méditerranéenne. *Arch. Inst. Pasteur, Afr. Nord*, 1922, *2*, 165-211.

27. Carpenter (C. M.). — Incidence of Undulant Fever. *J. A. M. A.*, 1949, *140*, 1.290.

28. Carpenter (C. M.) et Tempereau (C.). — Brucellosis. *Congress of Am. Public Health. New-York*, 24-28 oct. 1949.

29. Carrère (L.) et Quatrefages (H.). — Le séro-diagnostic de Wright. *Presse Médicale*, 1950, 6 mai. 518.

30. Carrère (L.), Renoux (G.) et Quatrefages (H.). — A propos de l'action de certaines peptones sur les Brucella. *Ann. Inst. Pasteur*, 1951, *80*, 321-322.

31. Casteneda (M. R.). — A practical method for routine blood-cultures in brucellosis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1947, *64*, 114.

32. Castaneda (M. R.). — Studies on the pathogenesis of brucellosis. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1947, *64*, 298.

33. Castaneda (R.). — Notas sobre problemas de patogenesis de la Brucelosis. *Gac. Med. Mexico*, 1949, *79*, 7-13.

34. Ceruti (O.). — Lesioni da brucella. *Giorn. Batt. Imm.* 1946, 385-434.

35. Courmont (P.) et Billa (M.). — De l'agglutination des microbes de la fièvre ondulante par le sérum de tuberculeux. *Bull. Soc. Sc. Vétér. Lyon*, 1933, *36*, 158.

36. Coventry (M. B.), Ivins (J. C.), Nichols (D. R.) et Weed (L. A.). — Infection of the Hip by Brucella Suis. *J. A. M. A.*, 1949, *141*, 320-325.

37. Cruickshank (J. C.). — A simple method for testing dye sensitivity of Brucella species. *J. Path. Bact.* 1948, *60*, 328.

38. Mac Cullough (N. B.). — Laboratory tests in the diagnosis of brucellosis. *Am. J. Publ. Health*, 1949, *39*, 866.

39. Mac Cullough (N. B.), Eisele (C.W.), Beal (G. A.). — Oral administration of killed brucella to man. *Publ. Health Rep.*, 1949, *64*, 1.613-1.616.

40. Mac Cullough (N. B.), Eisele (C. W.), Beal (G. A.). — Antigenic relationship of brucella and vibrio comma. *J. Inf. Dis.*, 1948, *83*, 55-59.

41. Dalrymple-Champneys (W.). — Undulant Fever. *The Lancet*, 1950, 11 et 18 mars, 429 et 477.

42. Damon (S. R.). — Studies on Brucellosis in Indiana. *77 th. annual Congress of the Am. Public Health.* New-York, 24-28 oct. 1942.

43. Darzine (E.). — Recherches sur la propagation de l'avortement épizootique de Bang chez l'homme en Lettonie. *Soc. Biol. de Lettonie* in *C. R. Soc. Biol.*, 1931, *108*, 740.

44. Davoli (R.). — Recherches sur le soi-disant antigène complet de Br. Mélitensis et Br. Abortus. *Boll. Sez. Ital. Soc. Intern. Micr.* 1938, *10*, 124-128.

45. Debré (R.), Marie (J.), Girard (P.). — Fièvre ondulante autochtone. Intérêt de l'épreuve à la Mélitine de Burnet. *Méd. Hôp.*, 1927, 16 décembre, 1.654-1.663.

46. Demetrio (D. di). — Sviluppo tardivo di Brucelle in emocoltura. *Giorn. di Medicina*, 1945, 375.

47. Dick (J. R.), Venzke (W. G.) et York (C.). — A method for differentiating between vaccinal titers and infection titers of Brucella Abortus in cattle. *J. A. V. M. Ass.*, 1947, *111*, 255.

48. Diehl (F.) et Roth (F.). — Diagnose der Bang infektion mit Bang-Vakzine-Salbe. *Münch Med. Woch.*, 1935, *82*, 838.

49. Donham (C. R.) et Fitch (C. P.). — A deshydrated bacterial agglutination antigen. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1934, *31*, 653-655.

50. Donham (C. R.) et Fitch (C. P.). — A modified technic for agglutination in Brucella infection. *J. Inf. Dis.*, 1936, *59*, 287.

51. O'Donoghue (A. F.). — Septic arthritis in the hip caused by Brucella Melitensis. *J. Bone and Joint. Surg.*, 1933, *15*, 506-508.

52. Drbohlav. — *Bull. Off. Intern. Hyg. publique*, 1937, *29*, 1.905-1.907.

53. Dubois (Ch.). — Recherche des agglutinines chez la vache et la brebis indemnes de Brucellose, soumises à l'injection de Br. Abortus. *C. R. Soc. Biol.*, 1936, *121*, 529.

54. Dubois (Ch.). — Au sujet de la réactivation du sérodiagnostic de Wright chez les ovins et les bovins atteints de Brucellose. *C. R. Soc. Biol.*, 1933, *114*, 1.275.

55. Dubois (Ch.) et Sollier (N.). — Diagnostic de la fièvre ondulante. Simplification de la technique de l'intra-dermo-réaction de Burnet. *C. R. Soc. Biol.*, 1932, *109*, 359.

56. Dubois (Ch.) et Sollier (N.). — Sur l'emploi de l'intra-dermo-réaction à la mélitine chez les sujets sains, vivant en milieu contaminé de Mélitococcie animale. *C. R. Soc. Biol.*, 1930, *105*, 191-193.

57. Durand (P.). — La réaction générale à l'injection intra-veineuse de mélitine. *Arch. Inst. Pasteur, Tunis*, 1938, *27*, 193-199.

58. Eickmann (H.) et Eschbaum (T.). — Nachprüfung der Flockungs-reaktion zum Nachweis des Seuchenhaften verkalbens nach Sachweh. *Deutsch. Tier. Woch.* 1937, n° 6.

59. Eisele (C. W.), Mac Cullough (N. B.), Beal (G. A.) et Rottschaffer (W.). — Brucella agglutination test and vaccination against cholera. *J. A. M. A.*, 1947, *135*, 983-984.

60. Enjalbert (E.) et Monnier (J.). — Valeur des recherches biologiques dans le diagnostic des Brucelloses. *Toulouse Méd.*, 1950, *51*, 659-674.

61. Foresti (C.). — Ulteriori ricerche di controllo del metodo de Santis. *Nuova Veter.*, 1935, 15 déc.

62. Francis (E.) et Evans (A. C.). — Agglutination, cross-agglutination and agglutinin absorption in Tularaemia. *Publ. Health Rep.*, 1926, *41*, 1.273.

63. Frosini. — *Pathologica*, 1938, *30*, 565.

64. Gadrat (J.). — A propos des soi-disant récidives de Melitococcie. *Toulouse Méd.*, 1951, *51*, 221.

65. Gallut (J.). — Relations antigéniques entre Vibrion cholérique et Brucelles. *Ann. Inst. Pasteur,* 1950, *79,* 335-338.

66. Gilbert (R.) et Dacey (H. G.). — The isolation of an organism of the Abortus Melitensis group from a blood clot. *Journ. Lab. a Clin. Med.,* 1932, *17,* 345.

67. Gilman (H. I.). — Fièvre ondulante causée par la souche 19 du Br. Abortus. *Corn. Veter.,* 1944, *34,* 193.

68. Girard (G.). — Agglutinations croisées Tularémie-Brucelloses. *Ann. Inst. Pasteur,* 1950, *79,* 359-366.

69. Giunchi (G.) et Liotta (I.). — Le traitement de la méningite brucellaire par la streptomycine. *Policlinico,* 1948, *55,* 235-246.

70. Gould (S. E.) et Huddleson (I. F.). — Diagnostic methods in Undulant Fever. *J. A. M. A.,* 1937, *109,* 1.971-1.974.

71. Grifeiths (J.). — Agglutination and an agglutinating blocking property in serums from known cases of brucellosis. *Publ. Health Rep.,* 1947, *62,* 865.

72. Grimaldi (M.) et Sanna (A.). — Sul valore diagnostico della reazione precipitante antibrucellare. *Giorn. Batt. Imm.,* 1946, *34,* 217-222.

73. Guy (G.). — L'agglutination rapide, méthode de diagnostic des Brucelloses. *Thèse de Montpellier,* 1943, N° 117.

74. Harris (H. J.). — Chronic brucellosis. The unsatisfactory status of current diagnostic methods. *Am. J. Publ. Health,* 1949, *39,* 870.

75. Hauptmann (W.). — Beweist ein positives agglutinationsergebnis das vorhandensein von Bangschen Krankheit ? *Med. Klin.,* 1935, *30,* 1.174.

76. Herrmann (O.), Mirsabekjan (A.) et Megrabjan (R.). — Banginfektion bei Studenten. *Zeitschr. f. Immun.* 1934, *81,* 500.

77. Howe (C.). — Acute brucellosis among laboratory workers. *New England Journ. Med.*, 1947, *236*, 741-747.

78. Huddleson (I.). — Demonstration of a capsule on Brucella cells. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1940, *43*, 773.

79. Huddleson (I.). — The presence of a capsule in Brucella cells. *J. A. V. M. Ass.*, 1940, *96*, 708.

80. Huddleson (I. F.). — The mucoid phases of the genus Brucella. *Amer J. Veter. Res.*, 1946, *7*, 5.

81. Huddleson (I. F.). — The isolation of Bacterium abortus from milk. *Michigan agr. Coll. Exp. Station. Bull.*, 1920, nov., 25-30.

82. Huddleson (I. F.) et Abell (E.). — Behavior of brucella Melitensis and abortus toward gentian violet. *J. Inf. Dis.*, 1928, *43*, 81.

83. Huddleson (I. F.) et Abell (E.). — Rapid macroscopic agglutination for the serum diagnosis of Bang's abortion disease. *J. Inf. Dis.*, 1928.

84. Huddleson (I.), et Forest. — *Am. J. Publ. Health*, 1931, *21*.

85. Huddleson (I. F.), Hasley (D. E.) et Torrey (J. P.). — Further studies on the isolation and cultivation of bacterium abortus. *J. Inf. Dis.*, 1927, *40*, 352.

86. Huddleson, Heishey et Huston. — *J. Inf. Dis.*, 1935. *57*.

87. Huddleson (I. F.), Johnson (H. W.) et Hamann (E. E.). — A study of the opsono-cytophagic power of the blood and allergic skin reaction in Br. Infection and Immunity in Man. *Am. J. Publ. Health.*, 1933, *23*, 917-929.

88. Janbon (M.). — Diagnostic de la Mélitococcie. *Journ. Méd. Fr.*, 1936, *25*, 92-100.

89. Janbon (M.) et Balmes (A.). — Ascite et Mélitococcie. *XX*[me] *Congrès Français de Médecine,* Montpellier, octobre 1929.

90. Janbon (M.). et Bertrand (L.). — Les Adénomégalies dans la Brucellose humaine. Leur valeur diagnostique et pronostique. *Presse Médicale,* 1949, 26 *nov.* 1.082-1.083.

91. Janbon (M.), Bertrand (L.) et Salvaing (J.). — Valeur diagnostique des adénomégalies dans la brucellose humaine. *Montpellier Méd.,* 1950, *37,* 44.

92. Jersild. — Diagnostiske og terapeutiske problemer ved ferris undulans. 1942. *Ejnar Munksgaard. kobenhavn.*

93. Jullien (J.) et Laurent (P.). — Diagnostic biologique des Brucelloses par la floculation des sérums en présence d'un antigène spécifique. *Ac. Méd.,* 1936, *115,* 207-212.

94. Khaled (Z.). — A comparative study of bovine abortion and undulant fever from the bacteriological point of view. *Journ. of Hyg.,* 1921, *20,* 319.

95. Klinkner (K.). — A propos des soi-disant récidives de la Mélitococcie. *Thèse de Toulouse,* 1949, N° 199.

96. Kollar (K.). — Vergleichende untersuchungen über den diagnostischen wert der flockungs reaktion nach Jullien und Laurent. *Wien. Kin. Woch.,* 1938, 708.

97. Koziowsky (E. V.). — Méthode de diagnostic bactérioscopique de la brucellose. *Médecine vétérinaire soviétique,* 1936, *1,* 20.

98. Kristensen (M.) et Holm (P.). — Bakteriologische und statistische Untersuchungen über Febris Undulans in Danemark. *Centralbl. f. Bakt.,* 1929, *112,* 281-312.

99. Kulowski (J.) et Vinke (T. H.). — Undulant Fever Spondylitis. *J. A. M. A.,* 1932, *99,* 1.656-1.659.

100. Kyger (E. R.) et Haden (R. L.). — Brucellosis and Multiple Sclerosis. *Amer. Journ. Med. Sc.*, 1948, *216*, 689-693.

101. Labranca (G.). — La differenziazione delle brucelle mediante i terreni di Petragnani. *Ann. Igiene*, 1938, 239.

102. Lauda (E.). — Die Diagnose der Bangschen Krankheit. *Wien. Klin. Woch.*, 1934, *47*, 1.578.

103. Lavergne (V. de). — Diagnostic et traitement de la Tularémie. *Congrès d'Hygiène*, 23-25 octobre 1950.

104. Ledoux (E. et A.). — Mélitococcie s'étant manifestée par trois poussées successives au cours d'une évolution de près de deux ans. *Méd. Hôp.*, 1941, 17 janvier, 53-55.

105. Lemierre (A.), Marchal (G.) et Jaubert (A.). — Un cas de fièvre ondulante autochtone. *Méd. Hôp.*, 1927, 23 déc., 1.702-1.709.

106. Lemierre (A.), Reilly (J.) et Franchel (F.). — Persistance d'une intradermo-réaction de Burnet positive dix ans après la guérison d'une Brucellose. *Méd. Hôp.*, 1938, 8 juillet, 1.269-1.270.

107. Léon (A.) et Sosa (J.). — Allergy in brucellosis. *Am. J. Publ. Health.*, 1947, *37*, 1.033.

108. Leonardi (P.). — Sul probabile meccanismo del fenomeno paradosso nelle agglutinazioni delle Brucelle. *Boll. Ist. Sierot. Milan.*, 1948, *27*, 58.

109. Lerche et Lentze (F. A.). — Weiterer Beitrag zur latenten Bang-infektion des Menschen. *Centralbl. f. Bakt*, 1933, *127*, 451.

110. Lisbonne (M.). — L'identification bactériologique des Brucella. Son intérêt dans l'épidémiologie de la fièvre ondulante. *Journ. Méd. Fr.*, 1936, *25*, 74-77.

111. Lisbonne (M.). — Le diagnostic de la Mélitococcie par les méthodes de laboratoire. *Progrès Méd.*, 1936, 1.889-1.894.

112. Lisbonne (M.). — L'hémoculture dans les Brucelloses. *Journ. Méd. Fr.*, 1936, *25*, 101-104.

113. Lisbonne (M.) et Monnier (P.). — Quelques propriétés de l'antigène complet de Br. Mélitensis. *C. R. Soc. Biol.*, 1936, *123*, 1.114.

114. Manguso (L.). — Comportamento del potere battericida del sangue verso la Brucella Melitensis ed il Bacillo di Eberth. *Acta Med. Ital.*, 1949, *4*, 143.

115. Massidda. — *Giorn. Batt. Imm.*, 1941, *27*, 257.

116. Meisel (H.). — Quelques remarques sur les réactions sérologiques avec le bacille de Bang dans les maladies fébriles typhoïdiques. *Soc. Pol. Biol.* in *C. R. Soc. Biol.*, 1930, *104*, 534.

117. Metzger (H. J.). Beaudette (F. R.) et Stoker (F. S.). The use of the incubation egg as a differential medium. *J. A. V. M. Ass.*, 1939, *95*, 158.

118. Meyer (K. F.) et Shaw (E. B.). — A comparison of the morphologic cultural and biochemical characteristics of B. Abortus and B. Melitensis. *J. Inf. Dis.* 1920, *27*, 173.

119. Meyer (K. F.) et Zobell (C. E.). — Metabolism studies on the brucella group. The bacteriostatic action of dyes. *J. Inf. Dis.*, 1932, *51*, 72.

120. Mickle (W.). — Capsule formation by members of the Brucella group. *J. Inf. Dis.*, 1940, *66*, 271-277.

121. Mirri (A.). — Contributo alla conoscenza delle lesioni anatomiche ed istologiche nell'infezione naturale da bacillo di Bang. *Clinica veterinaria*, 1930.

122. Mirri (A.). — La brucellina Mirri. *Clinica veterinaria*, 1935, *1*, 35.

123. Nègre (L.). — Sur l'agglutination du Micrococcus Mélitensis par les sérums normaux. *C. R. Soc. Biol.*, 1910, 564.

124. Nègre (L.) et Raynaud (M.). — Identification des Paramélitensis par l'épreuve de la saturation des agglutinines. *C. R. Soc. Biol.*, 1912, *72*, 1.052.

125. Nègre (L.) et Raynaud (M.). — *Presse Médicale*, 1911, 681-683.

126. Olitzki (L.) et Gurewitch (J.). — Gewinnung von Blutkulturen bei Maltafieber. *Centralbl. f. Bakt.*, 1932, *124*, 330.

127. Olmer (D.). — La mélitine de Burnet. *Journ. Méd. Fr.*, 1929, *18*, 182-186.

128. Otero (P.) et Gonzalès (L.). — Purified protein antigen from brucella. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1938, *38*, 703-705.

129. Pagnini (U.). — Sul valore del terreno all'uovo di Petragnani per la differenziazione delle Brucelle. *Gionr .Batt. Imm.*, 1935, *15*, 847.

130. Pangalos (G. E.). — La gélose au lait, milieu électif pour les microbes du groupe Brucella. *C. R. Soc. Biol.*, 1932, *111*, 504.

131. Partearroyo (F. R. de). — Causas de erros y modo de evitarias que pueden presentarse en el diagnostico de la fiebre de Malta. *Arch. Inst. Nac. Hyg. Alfonso XIII*, 1924, *3*, 31.

132. Pennel (R.) et Huddleson (I.). — Quantitative studies of Brucella percipitin systems. *J. Exp. Med.*, 1938, *48*, 73-93.

133. Peyré (R.). — Essais de traitement des brucelloses par injections intra-veineuses de vaccin anti-mélitensique non dilué. Application possible au diagnostic. *Thèse Montpellier*, 1945, N° 33.

134. Pisu (I.). — Nuovi orientamenti sulla classificazione della Br. Paramélitensis. *Boll. Ist. Sier. Milan.*, 1932, *2*, 512-521.

135. Plastridge (W. N.) et Mac Alpine (J. G.). — Microbic dissociation in the abortus melitensis group : observations on the mucoid form. *J. Inf. Dis.*, 1930, *46*, 315.

136. Poston (M. A.). — Studies on chronic Brucellosis. Methods used in obtaining cultures. *Publ. Health. Rep.*, 1938, *53*, 1-4.

137. Poston (M. A.) et Smith (D. T.). — Sucessful traitment of brucella meningitis. *New England Journ. Med.*, 1936, *225*, 369.

138. Puech (A.) et Vidal (J.). — Pleurésie séro-fibrineuse à mélitocoques. *Arch. Soc. Sc. Méd. Montpellier*, 1933, *14*, 238.

139. Pyrgialis. — Ueber eine neue und sichere diagnostische methode des Maltafiebers. *Münch. Med. Woch.* 1943, 534.

140. Rainsford (S. G.). — Laboratory methods of Diagnosis of Brucella Infections. *Jl. Roy. Nav. Med. Serv.*, 1933, *19*, 1 et 77.

141. Ranque (A.) et Senez (Ch.). — Le diagnostic bactériologique de la Mélitococcie. *Journ. Méd. Fr.*, 1929, *18*, 175-181.

142. Renoux (G.). — Anticorps bloquants dans le sérum de sujets brucelliques. *Ann. Inst. Pasteur*, 1950, *78*, 798-800 et *79*, 232-234.

143. Rimbaud (P.) et Janbon (M.). — Syndrome méningo-encéphalique de la Mélitococcie. *Journ. Méd. Fr.*, 1936, *25*, 87-89.

144. Rolle (M.). — Zusammenhang zwischen der Anwesenheit des Bacterium abortus im organismus und der Agglutination. *Deutsch. tier. Woch.*, 1932, *40*, 748.

145. Rossi (P.) et Saunié (L.). — Diagnostic de la brucellose des équidés par l'intra-dermo-réaction. *C. R. Soc. Biol.*, 1934, *115*, 134-137.

146. Rossi (P.) et Vigel (F.). — L'intra-dermo réaction dans le diagnostic de la brucellose bovine. *C. R. Soc. Biol.*, 1933, *115*, 248-250.

147. Rossle (R.). — Beitrag zur kenntniss der geweblichen veranderungen bei der Bangschen Krankheit des menschen. *Münch. Med. Woch.*, 1933, *80*, 5.

148. Rouslacroix (A.). — Le séro de Wright conserve sa valeur diagnostique. *Gaz. des Hôp.*, 1912, 439.

149. Santis (M. de). — Differenziazione di tipi nel gruppo Brucella mediante la coltura su terreni all'uovo. *Boll. ist. Sier. Milan.*, 1933, *12*, 846-858.

150. Sarnowiec (W.). — Sur l'apparition de formes filtrables de Br. Abortus dans les milieux additionnés de Tuberculine. *C. R. Soc. Biol.* 1938, *129*, 129-132.

151. Sasano (K. T.), Caldwell (D.) et Medlar (E. M.) — Complement fixation and agglutination tests in Brucella Abortus infection. *J. Inf. Dis.*, 1931, *48*, 576.

152. Saunié. — Les réactions allergiques dans le diagnostic des Brucelloses. *Thèse vétérinaire, Paris*, 1934.

153. Schuhardt (V. T.), Rode (L. J.), Foster (J. W.) et Oglesby (G.). — An antibrucella factor in peptones. *J. Bact.*, 1949, *57*, 1-8.

154. Sergent (E.). — Définition de l'immunité et de la prémunition. *Ann. Inst. Past.*, 1950, *79*, 786-797.

155. Sforza (M.). — Brucellosi in Eritrea. Su uno stipite mucoso di Brucella Melitensis. *Ann. Igiène*, 1948, *58*, 27.

156. Shaw (E. A.). — On a quantitative bacteriological examination of the blood of 103 Mediterranean fever patients. *Reports of the Commission of Mediterranean Fever*, Août, 1905.

157. Sievert (L.). — Untersuchungen über den Antigenaufbau in der Brucellagruppe. *Zeitschr. f. Immun.*, 1936, *89*, 249.

158. Silberstein (W.). — Zum kulturellen Nachweis des Bacillus abortus Bang beim Menschen. *Zeitschr. f. Hyg.*, 1932, *114*, 177.

159. Sirk (F.). — Die verwandbarkeit getrockneter blut- und milchpraparate in der bangdiagnostik. *Wien Tier. Monatsch.*, 1937, *24*, 614.

160. Spink (W. W.) — Brucellosis - diagnosis, treatment. *J. A. M. A.*, 1949, *139*, 554.

161. Spink (W. W.). — Pathogenesis of human brucellosis. *Annals of Int. Med.*, 1948, *29*, 238-258.

162. Spink (W. W.), Hofbauer (F. W.), Walker (W. W.), Green (R. A.). — Histopathology of the liver in human brucellosis. *J. Lab. a Clin. Med.*, 1949, *34*, 40.

163. Spink (W. W) et Kimball (A.). — Comparative study of agglutinins and complement-fixing antibodies for brucella in blood and cerebro-spinal fluid. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 1950, *73*, 67-69.

164. Stafseth (H. J.). — A few notes on the isolation and cultivation of bacterium abortus. *Michigan agr. Coll. Exp. Stat. Bull.*, 1920, nov., 7-11.

165. Stone (R. V.) et Bogen (E.). — Studies of correlated human and bovine brucelliasis. *Am. J. Publ. Health.*, 1935, *25*, 580.

166. Supfle (K.) et Hofmann (P.). — Serologische und bakteriologische untersuchungen über das vorkommen von menschlichen Banginfektionen. *Arch. f. Hyg.*, 1932, *108*, 113.

167. Tapie (J.), Andrieu (G.), Darnaud, Gourdou et Garric. — Dissociation des épreuves biologiques au cours d'une brucellose. *Soc. Méd. Ch. Ph. Toulouse*, 14 mars 1942.

168. Taylor (R. M.), Lisbonne (M.), Roman (G.). — Recherches sur l'identification des brucella par l'action bactériostatique des matières colorantes et la production d'hydrogène sulfuré. *Ann. Inst. Pasteur,* 1932, *49,* 284-302.

169. Taylor (R. M.), Lisbonne (M.), Vidal (L.). — La fièvre ondulante en France. *Mouvement Sanitaire,* 1935, N° 130.

170. Thiéry (J.-P.). — La brucellose des bovins. *Rev. Path. comp.,* 1944, *44,* 213.

171. Thomsen (A.). — Ome nogle Erhveros serologiske Reaktions - forhold overford Abortbacillen. *Kgl. Veterinoer. og Landb. Aarskrift.,* 1930.

172. Topping (L. E.). — Carbohydrate and nucleoprotein fractions isolated from the Brucella group. *J. Path. Bact.,* 1934, *39,* 665.

173. Tosatti. — La coltivazione sui terreni all'uovo come mezzo di differenziazione della Brucella. *Pathologica,* 1934, *26,* 247.

174. Vallet (G.) et Rimbaud (L.). — Etude expérimentale de l'agglutination du Micrococcus Mélitensis. Sa valeur diagnostique. *Arch. Méd. Expér. et Ana. Path.,* 1913, *25,* 373.

175. Mac Vay (E. V.), Guthrie (F.), Michelson (I. D.) et Sprunt (D. H.). — Isolation of Brucella from apparently healthy individuals. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1948, *69,* 607.

176. Velu (H.) et Zottner (G.). — Valeur antigénique de Br. Abortus en excipient gras. *C. R. Soc. Biol.,* 1935, *118,* 225 et 1.157.

177. Velu (H.), Zottner (G.) et Sarthou (C.). — Brucella abortus en excipient gras ; variation du taux des agglutinines. Vaccinations. *C. R. Soc. Biol.,* 1936, *121,* 1.041.

178. Venzke (W. G.). — The differenciation of cattle with Br. Abortus infection titers in cattle vaccinated with Br. Abortus Strain 19. *The North Am. Veter.*, 1948, *29*, 484.

179. Vittone (R.). — Il terreno di Petragnani nella differenziazione delle Brucelle. *Boll. Ist. Sier. Milan.*, 1935, 633.

180. West (E.) et Borman (E.). — The culturing of blood clots for Brucella organisms. *J. Inf. Dis.*, 1945, 77, 187.

181. Wise et Poston. — *J. A. M. A.*, 1940, 1.976-1.984.

182. Zeissig (A.) et Mansfield (H. L.). — A comparison of the agglutination and complement fixation tests for the detection of Brucella abortus infection. *J. A. V. M. Ass.*, 1930, *76*, 211.

# TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION . . . . . 9

I. — LA MISE EN EVIDENCE DU GERME DANS L'ORGANISME . . . . . 11

1° Les Brucella . . . . . 11

2° La localisation des Brucella dans l'organisme . . . . . 19

3° Valeur de la présence des Brucella dans l'organisme . . . . . 22

II. — LA RECHERCHE DES REACTIONS D'IMMUNITE . . . . . 29

1° Le Séro-Diagnostic . . . . . 29

2° La Déviation du Complément . . . . . 48

3° La Réaction de Floculation . . . . . 49

4° La Recherche du Pouvoir Bactéricide du Sérum . . . . . 51

5° L'Index Opsono-Cytophagique . . . . . 52

6° Les Antigènes des Brucella . . . . . 53

III. — L'APPARITION DES REACTIONS D'ALLERGIE . . . . . 55

1° Les Antigènes employés . . . . . 55

2° Les voies d'introduction . . . . . 56

3° L'interprétation des résultats . . . . . 59